

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y AGRIMENSURA

**Efectos Electrónicos sobre Propiedades
Magnéticas de Fragmentos Moleculares de
Sistemas de Interés Biológico o Bioquímico**

TESIS ESCRITA POR FERNANDO A. MARTÍNEZ
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
DOCTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE EN
QUÍMICA

DIRIGIDO POR:
DR. GUSTAVO A. AUCAR

Agradecimientos

Esta tesis doctoral no hubiera sido posible sin las personas que me guiaron, acompañaron, sostuvieron y alentaron durante estos años.

En primer lugar quiero expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Gustavo Aucar, quien me dio esta gran oportunidad y guió mis pasos desde el primer día, apoyándome y alentándome en todo momento en el desarrollo de este trabajo. Agradezco sus enseñanzas, sus consejos, su enorme paciencia, la contención y por sobre todo agradezco el privilegio de permitirme trabajar junto a un gran científico y ser humano.

Al Dr. Claudio Cavasotto del Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional (IIMT), debo un agradecimiento especial por su colaboración en el desarrollo de parte de esta tesis, particularmente en la realización de cálculos de dinámica molecular.

Agradezco a las autoridades del Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica (IMIT) por brindarme las condiciones y recursos necesarios para realizar este trabajo. A las secretarías del Instituto: Eugenia, Carolina y Mabel, por la colaboración y asistencia en cuestiones administrativas. Al administrador del Cluster, José, por todo el soporte técnico brindado.

Del mismo modo, quiero agradecer a quienes formaron y forman parte de la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura de la UNNE: Dra. Laura Leiva, Dr. Rodolfo Romero, Liz, Mareva, Federico, Carlos y Angel, por la atención permanente de consultas y la resolución de situaciones administrativas.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) doy

las gracias por haberme otorgado, a través de su sistema de becas, el financiamiento de los gastos demandados durante la formación doctoral.

Muy especialmente quiero agradecer a Marcos, mi socio, mi cómplice y mi gran complemento en este proyecto. Gracias por enseñarme tanto, por ser como un hermano. A Patricia, quien en muy poco tiempo se convirtió en una gran compañera de vida.

A mis compañeros de oficina: Leonardo, Agustín, Teresita, Alejandro, Gabriela, Carlos, Diego, Andy, por el cariño y la calidez que me dan día a día. Junto a ellos compartí y aún comparto la mayor parte de cada día. Agradezco las charlas, las risas, la contención, la ayuda y apoyo permanentes.

Agradezco a Gabriel y Germán, por ser mis amigos desde antes de recorrer este camino, y junto a los cuales aprendí muchísimo. Gracias por ser mis consejeros, los que me sostienen y me dan fuerzas para recuperarme ante la caída.

Gracias a Eduardo, Juan Carlos, César, por la amistad, la confianza, por compartir conmigo momentos tan lindos todos los días y ayudar a que cada jornada de trabajo sea más amena.

Finalmente quisiera expresar mi enorme gratitud hacia mi mamá y mis hermanos, por la paciencia, el acompañamiento, por no dejarme caer y por haber entendido que mis largas ausencias en estos últimos años tenían como razón lograr concluir este proyecto tan importante en mi vida.

Índice general

Agradecimientos	I
Resumen	VI
Introducción	1
I Fundamentos Teóricos	8
1. Métodos de la Química Cuántica	9
1.1. Aproximaciones a la función de onda exacta	10
1.1.1. Correlación electrónica	10
1.1.2. Conjuntos de bases de funciones	11
1.1.3. Conjunto de bases localmente densas	14
1.2. Teoría del funcional de la densidad	15
1.2.1. Teoremas y ecuaciones fundamentales	15
1.2.2. Funcionales de correlación-intercambio	17
1.2.3. Interacciones de dispersión	19
1.3. Teoría de propagadores de polarización	19
1.3.1. Nivel de aproximación RPA	22
1.3.2. Aproximación SOPPA	23
1.4. Dinámica molecular	23

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	IV
2. Resonancia Magnética Nuclear	26
2.1. El fenómeno de la RMN	27
2.1.1. Frecuencia de Larmor	28
2.2. Apantallamientos magnéticos	30
2.2.1. Contribuciones diamagnética y paramagnética	30
2.2.2. Corrimientos químicos. Compuestos de referencia y escala de medida	32
2.3. Acoplamientos indirectos entre espines nucleares	34
2.3.1. Teoría de Ramsey	35
2.3.2. Mecanismos electrónicos de acoplamiento núcleo-electrón	36
2.4. Interacciones no covalentes	39
2.4.1. Enlaces de hidrógeno	39
2.4.2. Apilamiento π (π -Stacking)	43
2.5. Efectos del solvente	46
2.5.1. Modelos para la inclusión de solvente	48
II Propiedades magnéticas en fragmentos moleculares	50
3. Propiedades magnéticas en bases nitrogenadas del ADN	51
3.1. Niveles de teoría y detalles computacionales	52
3.2. Parámetros espectroscópicos de la RMN en timina	54
3.3. Parámetros espectroscópicos de la RMN en AT y GC	60
4. Influencia del apilamiento $\pi - \pi$ sobre los parámetros magnéticos en fragmentos de ADN	67
4.1. Modelos empleados	67
4.2. Niveles de teoría y detalles computacionales	71
4.3. Apantallamientos magnéticos	71
4.4. Acoplamientos indirectos J	76
4.5. Efectos de dispersión sobre σ y J	80

5. Efectos del solvente sobre propiedades magnéticas de fragmentos de ADN	84
5.1. Modelos empleados	85
5.2. Detalles computacionales	87
5.3. Apantallamientos magnéticos	89
5.3.1. Solvente explícito	90
5.3.2. Solvente implícito	97
5.4. Acoplamientos indirectos entre núcleos de átomos de un mismo par .	99
5.5. Acoplamientos indirectos entre núcleos de átomos de pares apilados .	102
Conclusiones y perspectivas	106
Bibliografía	112
Publicaciones	127

Resumen

Este trabajo de tesis se concentró en el estudio de la influencia que pudiera tener el apilamiento o *stacking* sobre las propiedades magnéticas de átomos pertenecientes a los pares adenina-timina y guanina-citosina en pequeños fragmentos de ADN. Se usaron como sondas los parámetros espectroscópicos de la resonancia magnética nuclear, los que se encuentran entre las herramientas más útiles para evaluar la transmisión de interacciones magnéticas en moléculas.

Los estudios teóricos realizados incluyen diferentes niveles de teoría y metodologías. Entre los primeros se hallan la teoría del funcional de la densidad (DFT), propagadores de polarización al segundo orden de aproximación (SOPPA) y dinámica molecular (DM), combinados con varios tipos de conjuntos de base de funciones. Éstos fueron complementados con el uso del esquema de bases localmente densas (LDBS) considerando el gran tamaño de los sistemas. Para los casos en que se evaluó el efecto del solvente, se emplearon modelos de solvente implícito, explícito y una combinación de ambos.

Se encontró que el apilamiento de un número reducido de pares de bases de Watson-Crick por arriba y por debajo de un par determinado, modifica sus parámetros espectroscópicos de RMN en una magnitud susceptible de ser observada experimentalmente.

En vacío, puede verificarse que los apantallamientos magnéticos son más sensibles que los acoplamientos indirectos J , a la vez que ciertos átomos son más sensibles que otros. El apilamiento de bases afecta el apantallamiento de átomos diferentes al hidrógeno como nitrógenos, que se comportan como donadores en enlaces

de hidrógeno, EH, y los carbonos unidos a ellos. El porcentaje de variación de esos apantallamientos alcanza entre un 2% y un 5%, cuando los pares se consideran aislados y luego en el centro de un pequeño fragmento de ADN. Tal variación se vuelve muy pequeña cuando el par se compara entre fragmentos, mostrando que el efecto de apilamiento de bases sobre los parámetros estudiados tiene una naturaleza local.

La dependencia de los apantallamientos magnéticos respecto de los efectos del apilado de bases sigue un patrón de comportamiento bien definido: a) átomos equivalentes de monómeros similares (timina y adenina, o guanina y citosina) tienen valores similares de apantallamientos absolutos en pares aislados, y la proporción de cambio desde el sistema aislado al fragmento es también similar; b) los átomos de hidrógeno que pertenecen a enlaces de hidrógeno son más sensibles al apilamiento que aquellos diferentes a hidrógeno.

En presencia de agua como solvente, los resultados más interesantes aparecen al emplear un modelo de solvente explícito. Se evaluaron los efectos que produce el apilamiento de bases sobre los parámetros espectroscópicos de la RMN pero bajo la influencia de moléculas de agua rodeando a los sistemas estudiados.

En el caso de los apantallamientos magnéticos, por un lado se determinó que el solvente puede modificar sus valores respecto al vacío sin modificación del efecto que produce el apilamiento. Por otro lado, existen casos en los que el solvente también puede modificar la conducta del efecto producido por el apilamiento sobre el apantallamiento.

La evaluación de los acoplamientos indirectos J se realizó sobre núcleos que pertenecen a un mismo par de bases y sobre núcleos que pertenecen a dos pares de bases que se encuentran apiladas. En el primer caso, la inclusión del solvente explícito afecta los acoplamientos pertenecientes al par utilizado como testigo para todos los sistemas cuando se los compara con el vacío. Pero además, el análisis del apilamiento de bases revela que la presencia del solvente potencia su efecto sobre los acoplamientos. En el segundo caso se observó que el efecto de la interacción de apilamiento puede experimentar variaciones debidas a la adición de pares de bases nitrogenadas por encima

y por debajo del par elegido como testigo al evaluarlo en vacío, y el acoplamiento J demuestra ser un parámetro sensible a estas variaciones. Por su lado, la presencia del solvente explícito también produce cambios que pueden verse reflejados en los valores de acoplamiento, no sólo para cada sistema en particular comparado con los valores en vacío, sino también durante el proceso de adición de pares de bases, es decir, el solvente también ejerce una influencia sobre el efecto de apilamiento.

Introducción

Las interacciones no covalentes juegan un rol muy importante en la determinación de la estructura de biomacromoléculas como el ADN y las proteínas, y son las responsables de los procesos de reconocimiento molecular. En el ADN las principales interacciones electrónicas actúan a través de enlaces de hidrógeno, EH, a lo largo del plano de los pares de bases nitrogenadas o perpendiculares a él, a través de interacciones de apilamiento o *stacking*. Estas últimas están relacionadas a interacciones π - π y a aquellas conocidas como “interacciones diagonales”. Teniendo en cuenta que la interacción de apilamiento en el ADN es más frecuente que el EH, se considera que tanto el apilamiento como el EH contribuyen de manera comparable a la estabilidad del ADN.^[1] Sin embargo, Rezáč y Hobza demostraron que cuando se considera la estabilidad del ADN desenrollado, esta situación cambia. En este caso se debe considerar el rol del entorno acuoso. Dado que los momentos dipolares de guanina, citosina y timina son elevados, la exposición de estas bases a las moléculas de agua aporta un componente de estabilización. Esta energía de hidratación es más importante que aquella aportada por la complementariedad de bases de Watson-Crick. En consecuencia, la estabilidad del ADN se origina principalmente en las interacciones de apilamiento, y los EH contribuyen menos.^[2] Dado que la estructura primaria del ADN es químicamente monótona, es común asumir que el apilamiento de bases es el factor dominante en la variabilidad conformacional del B-ADN. El apilamiento es responsable de gran parte de la dependencia con la secuencia que posee la estructura, la dinámica y la estabilidad de ácidos nucleicos.^[3]

Gran cantidad de esfuerzos fueron dirigidos a entender mejor a estos tres tipos

de interacciones: EH, interacciones π - π e interacciones diagonales. Se realizaron estudios a fin de determinar la fortaleza del EH, orientados a establecer el origen de la estabilidad alcanzada por el EH en los pares adenina-timina del ADN^[4], la funcionalidad del ángulo de rotación en la estructura^[5], la estimación de las contribuciones individuales de cada EH intermolecular en los pares adenina-timina (AT) y guanina-citosina (GC)^[6] y el rol de la energía de dispersión y la energía electrostática sobre la geometría y estabilidad de la doble hélice de B-ADN.^[7]

En un trabajo sobre la importancia de la transferencia de carga y del EH asistido por resonancia, RAHB, sobre la estabilización de pares de bases de Watson-Crick, Fonseca y coautores encontraron que las interacciones electrostáticas y la transferencia de carga tienen ambos una importancia similar, y que además los electrones de tipo π proporcionan un componente adicional de estabilidad.^[8] Ellos demostraron que en lugar de la RAHB, es vital la naturaleza química de la transferencia de carga del EH junto con la interacción electrostática clásica, para el comportamiento y estabilidad del ADN.

Por otro lado, las interacciones interbase o de apilamiento fueron estudiadas recientemente para alcanzar un entendimiento más profundo de las fuerzas de apilamiento necesarias para romper fragmentos de pares de bases del ADN dejando intactos los enlaces de hidrógeno a nivel de pares individuales.^[9] Estos estudios son de gran interés debido a sus aplicaciones; por ejemplo, para tomar decisiones más informadas en el diseño de dispositivos dinámicos basados en la nanoescala del ADN.

En una primera aproximación se puede describir al apilamiento de bases como una combinación de tres contribuciones: la interacción electrostática, la atracción de la dispersión de London y la repulsión de corto alcance.^[10] Aunque todavía se usan los términos “apilamiento aromático” o “apilamiento π - π ”, se debe tener en cuenta que no hay efectos específicos del apilamiento de bases asociados con los electrones π deslocalizados. La energía del apilamiento de bases se debe principalmente a la planaridad de las bases que permite la maximización de la atracción de dispersión.^[10-12]

Por su lado, Fonseca y colaboradores consideran que la fortaleza del apilado pue-

de estar relacionada con las interacciones π - π ^[13] y “las interacciones diagonales”, términos cruzados que aparecen entre una base perteneciente a un par y la base opuesta perteneciente al par siguiente.^[5] Se encontró que estos términos cruzados son más importantes para secuencias ricas en pares GC que para aquellas secuencias equivalentes ricas en pares AT. En otros estudios encontraron que la incorporación de ciertas modificaciones en la estructura de tétradas de guanina (como la adición de átomos de halógenos) mejora las interacciones de apilamiento de bases entre las tétradas naturales y las modificadas, siendo esta interacción la principal responsable en la modulación de la energía de unión total.^[14,15]

Las primeras capas de agua alrededor del ADN son críticas para su estructura y función biológica. De hecho la deshidratación puede cambiar la estructura de la forma típica dextrógira del B-ADN a la forma A (más corta y ancha) y la forma Z (levógira).^[16] Por otra parte, las interacciones de las cadenas de ADN con moléculas pequeñas, proteínas y fármacos están mediadas por la estructura de solvatación, la cual forma una barrera de activación para los procesos biológicos esenciales, entre ellos la transcripción del ADN que involucra a biomoléculas que se unen al ADN desplazando la capa de solvatación.^[17-19] Por lo tanto, claramente el agua es un componente activo de la arquitectura biológica^[20] y no solamente un solvente.

En lo que refiere a estudios teóricos del ADN con moléculas de agua, se pueden encontrar por un lado aquellos destinados a determinar la dinámica de las moléculas de agua en la vecindad del ADN, llevada a cabo mediante métodos clásicos; y por otro lado aquellos destinados a determinar los efectos del solvente sobre la estructura electrónica del ADN, mediante métodos de la química cuántica. En el primer caso, las simulaciones de dinámica molecular mostraron recientemente que existe un amplio rango de dinámicas de las moléculas de agua, y se identificaron moléculas con muy baja movilidad en el surco menor del ADN, lo que es consistente con las observaciones realizadas a través de rayos x.^[21] En el segundo caso, se encontró que existe una gran dependencia de la replicación del ADN con el apilamiento π y la presencia de agua como solvente.^[22-25] En estos trabajos se detalla la importancia de la función que

desempeñan los EH, los efectos del solvente, los ángulos de giro y las interacciones de apilamiento en la estabilidad de pares de bases complementarias y no complementarias. En trabajos similares se llevaron a cabo estudios de la estabilidad de pares de bases no naturales del ADN.^[26–28]

La mayoría de los estudios mencionados arriba están relacionados con las energías electrónicas, distribuciones de cargas y propiedades electrónicas. Pero, ¿qué ocurre con las propiedades magnéticas? ¿Las interacciones de apilamiento pueden ser observadas del mismo modo a través de los parámetros espectroscópicos de la RMN? Uno de los objetivos de esta tesis fue darle respuesta a estas preguntas. Nos interesó conocer la influencia general del apilamiento de pares de bases (hasta cinco pares) sobre las propiedades magnéticas de un determinado par, tanto si se lo evalúa en vacío como en presencia de un solvente. Es posible que exista una dependencia de los apantallamientos magnéticos nucleares y de los acoplamientos indirectos J con los efectos cooperativos sumados a aquellos de apilamiento y EH. También se realizaron trabajos para responder a la pregunta sobre si las interacciones de apilamiento pueden apoyar la aparición de efectos de cooperatividad transmitidos a través de los fragmentos de ADN.

En línea con esto, se pretendió conocer si hay ciertos átomos, en un par de bases pertenecientes a un pequeño fragmento de ADN, que sean más sensibles a la presencia de los otros pares de bases en la cadena.

Durante las últimas décadas hubo un interés creciente en el estudio tanto de estructura como de dinámica de moléculas de ADN empleando diferentes técnicas. La RMN es una de las herramientas más potentes y de uso generalizado para este tipo de estudios. Aproximadamente la mitad de las estructuras de ARN actuales fueron determinadas mediante técnicas de RMN.^[29,30] No solamente las estructuras sino también los mecanismos electrónicos que subyacen a los parámetros espectroscópicos de la RMN fueron y siguen siendo de gran interés. El trabajo seminal de Juranic y colaboradores, sobre la transmisión de acoplamientos J a través de enlaces de hidrógeno en bases de ácidos nucleicos, abrió la puerta a nuevas aplicaciones de la RMN a moléculas

las de ADN.^[31,32] Ellos demostraron experimentalmente que los acoplamientos J a través de EH, son sensibles a entornos extendidos conteniendo enlaces de hidrógeno, como así también los acoplamientos intra e intermoleculares en proteínas.

En cuanto al aspecto computacional de los parámetros de la RMN de bases del ADN, Marek y coautores encontraron resultados teóricos que están en concordancia con valores experimentales en isómeros de adenina usando teoría del funcional de la densidad (DFT).^[33] Fiala y colaboradores hicieron estudios comparativos similares sobre carbonos cuaternarios en moléculas de ARN.^[34] Ellos encontraron que la sensibilidad de los acoplamientos espin-espin al apareamiento de bases, así como la concordancia de los valores calculados con los obtenidos experimentalmente, dependen fuertemente del tipo de núcleos que intervienen además del número de enlaces que los separan. Por esa razón pueden ser usados para incorporar una nueva visión sobre la naturaleza del EH.^[35,36] Se realizaron estudios posteriores mostrando que los corrimientos químicos teóricos son valiosos para la caracterización de la conformación de ácidos nucleicos.^[37]

El cálculo de los parámetros de la RMN ha contribuido de manera significativa al entendimiento de las interacciones moleculares en bases del ADN y el ARN.^[38] Por otro lado, la inclusión de interacciones intermoleculares en los cálculos de corrimientos químicos de ^{15}N proveen resultados que se ajustan muy bien a los valores experimentales.^[39,40] Al estudiar de manera sistemática las distancias de los enlaces de hidrógeno en el par GC, se encontró que el apantallamiento del nitrógeno ^{15}N depende fuertemente de la distancia entre las bases.^[41] Por lo tanto, los parámetros espectroscópicos de la RMN también pueden suministrar información de las distancias entre aceptor y donador del EH en ácidos nucleicos.^[36]

En un estudio reciente sobre el efecto de sustituyentes en adenina-timina y adenina-uracilo se encontró que, si bien se producen cambios en la fortaleza del enlace de hidrógeno y en el apantallamiento del carbono 2 de adenina, estos dos efectos son independientes y no están correlacionados.^[42]

En lo que concierne a efectos cooperativos, hace algunos años se demostró que

pueden surgir debido a EH en bases nucleicas cuando se consideran los dímeros^[43], o cuando los monómeros están extendidos en configuraciones planares^[44]; pero aún no queda claro si tales efectos pueden también ser transmitidos a través de los arreglos de la hélice de ácidos nucleicos.

En el grupo de Física Atómica y Molecular del Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica (CONICET-UNNE) se obtuvieron nuevos entendimientos sobre los mecanismos electrónicos envueltos en las perturbaciones magnéticas que son transmitidas a través de enlaces de hidrógeno. Se demostró que los apantallamientos magnéticos y los acoplamientos indirectos J de sistemas que contienen EH, son influidos por las geometrías y el grado de covalencia del enlace de hidrógeno así como la resonancia intra e intermolecular, y no solamente sistemas con RAHB.^[45] Por otra parte, estudiando al malonaldehído y algunos de sus derivados, determinamos cuáles son los mecanismos de interacciones magnéticas que indican cuándo un sistema puede tener RAHB.^[46] También se encontraron efectos cooperativos en propiedades magnéticas de cadenas lineales de $(\text{CNH})_n$ y $(\text{NCH})_n$ a los niveles de aproximación DFT/B3LYP y SOP-PA.^[47] Además se encontraron efectos electrónicos de largo alcance (transmitidos a través de unos pocos nanómetros) que pueden dar valores medibles de acoplamientos J en sistemas insaturados.^[48]

En el marco de esta tesis doctoral se intentó responder a las siguientes preguntas: i) ¿Los parámetros espectroscópicos de la RMN son adecuados para medir la influencia, sobre un determinado par de bases, del apilado de bases de Watson-Crick?; ii) Siendo el EH y el apilamiento las principales fuerzas que gobiernan la estabilidad de la hélice de ADN, ¿influyen de manera diferente sobre esos parámetros espectroscópicos?; iii) ¿Cuáles son los átomos más sensibles, las regiones de cada par de bases y los parámetros espectroscópicos que se deben considerar?; iv) ¿Cuáles son los efectos que genera la inclusión del solvente sobre los parámetros espectroscópicos?; v) ¿Cuál es el modelo de solvente que mejor se adecua para describir su influencia sobre los fragmentos de ADN que aquí se estudian?

En los capítulos 1 y 2 de la primera parte de esta tesis, se abordan los conceptos

teóricos fundamentales sobre los que se sustentan los estudios desarrollados en la segunda parte.

En el capítulo 3 de la segunda parte de este trabajo, se exhiben resultados del empleo del estado del arte de los funcionales de la DFT y métodos *ab initio* para calcular los parámetros espectroscópicos de la RMN. Se validaron los funcionales B3LYP^[49,50], BHANDLYP^[51], y KT2^[52] y KT3^[53] con los resultados obtenidos usando propagadores de polarización al segundo orden de aproximación, SOPPA.^[54-56] Los cálculos a nivel SOPPA pueden realizarse solamente para monómeros usando conjuntos de bases suficientemente grandes. Esta parte del trabajo se inició con el análisis de los parámetros espectroscópicos de la RMN de los monómeros adenina y timina, y luego se continuó con el estudio de los pares AT y GC. Se estudió también la ventaja de aplicar esquemas de simplificación de cálculos y reducción de costos computacionales.

En el capítulo 4 se incrementó la complejidad de los sistemas estudiados empleando fragmentos de ADN con diferentes secuencias de pares de bases, según sean más ricas en pares GC o en pares AT. A partir de ellos se determinó la influencia del apilamiento de pares de bases por encima y por debajo de un par central sobre el cual se realizaron determinaciones de los parámetros espectroscópicos de la RMN. Además, al estar en juego interacciones de naturaleza no covalente, se requirió evaluar la performance de un funcional que incluya correcciones dispersivas, en este caso el funcional B97-D.^[57]

Con el objeto de investigar las condiciones del medio sobre las propiedades magnéticas, en el capítulo 5 se analizan los efectos de la presencia del solvente sobre los parámetros espectroscópicos de la RMN en fragmentos de ADN. Se evaluaron los tres modelos más comunes de inclusión de solvente: explícito, implícito y mixto. Además, se estudió la influencia del solvente en el efecto de apilamiento sobre los parámetros espectroscópicos. Al evaluar el acoplamiento indirecto J , se llevaron a cabo cálculos que involucran núcleos pertenecientes a un solo par de bases, como así también a núcleos que pertenecen a dos pares de bases consecutivos a través de la interacción de apilamiento que los mantiene unidos.

Parte I

Fundamentos Teóricos

Capítulo 1

Métodos de la Química Cuántica

Para entender la química es preciso entender el comportamiento de los electrones. Se sabe que estos electrones pueden comportarse como ondas y que la ecuación de Schrödinger proporciona la descripción correcta de las partículas mecanocuánticas, como el electrón. La estructura electrónica y las propiedades de cualquier molécula, en cualquiera de sus estados estacionarios disponibles pueden determinarse, en principio, mediante la solución de la ecuación de Schrödinger.

Debido a que la ecuación de Schrödinger no se puede resolver exactamente en sistemas cuánticos de muchos cuerpos como las moléculas o los átomos multielectrónicos, fue necesario desarrollar una variedad de métodos matemáticos que hicieran posibles soluciones computacionales aproximadas de dicha ecuación. Por lo tanto es preciso hablar de diferentes modelos, niveles de teoría y jerarquías de aproximaciones.^[58]

Una consideración clave para la elección del modelo teórico en el que se basa el estudio de un problema químico es el balance entre el costo computacional y la precisión aceptable para el estudio por realizar. Ciertos métodos sólo son factibles para moléculas pequeñas y pueden proporcionar resultados muy precisos, mientras que para moléculas más grandes se deben emplear métodos menos precisos.

En este capítulo se describen los modelos teóricos y los elementos que se tuvieron en cuenta para el desarrollo de esta Tesis. Estas herramientas son las que hemos aplicado para el estudio de las propiedades magnéticas en sistemas de gran tamaño

teniendo en cuenta el balance entre costo computacional y precisión.

1.1. Aproximaciones a la función de onda exacta

En el área de la química cuántica computacional se desarrollaron modelos estándar para la construcción de funciones de onda electrónica aproximadas. Al nivel más simple, la función de onda se representa mediante un sólo determinante de Slater, como es el caso de la aproximación de Hartree-Fock.^[59] A un nivel más complejo, la función de onda se puede representar mediante la superposición determinada variacionalmente de todos los determinantes de Slater en el espacio de Fock de N partículas. Entre estos extremos, existe un extenso número de modelos intermedios y jerarquías de modelos, permitiendo descripciones con costos y flexibilidad variadas.^[58] Sin embargo, ninguno de estos modelos es aplicable bajo todas las circunstancias y ninguno tiene éxito en la incorporación adecuada de todas las propiedades que caracterizan el estado electrónico exacto de un sistema. La elección del modelo más adecuado a emplear también requiere tener en cuenta otros aspectos y elementos, como la necesidad de incluir la correlación electrónica y la extensión de la base de funciones.

1.1.1. Correlación electrónica

El método de Hartree-Fock permite encontrar una función de onda para la cual la posición de un electrón depende de las posiciones promediadas de los demás. La realidad es que la posición de cada electrón depende de la posición concreta de todos los demás en cada momento, es decir, que las posiciones están correlacionadas instantáneamente. Existen dos factores que contribuyen a la correlación electrónica:^[60]

- La *correlación de Fermi* o de *intercambio*: surge debido a la naturaleza fermiónica de los electrones. El principio de exclusión de Pauli implica que la probabilidad de hallar dos fermiones en el mismo punto sea nula, por lo que la continuidad de la función de onda obliga a que exista una zona alrededor de

un electrón con una baja probabilidad de hallar otro electrón con igual espín (*hueco de Fermi*).

- La *correlación de Coulomb*: surge debido a la repulsión electrostática de los electrones, y crea en torno a cada electrón otra zona de baja probabilidad de hallar a algún otro electrón (*hueco de Coulomb*). Cuando se habla de correlación electrónica simplemente, se suele referir a la correlación de Coulomb.

Al emplear un determinante de Slater, ya se está teniendo en cuenta íntegramente la correlación de intercambio. Sin embargo, no se tiene en cuenta la correlación de Coulomb, por lo que la energía que se obtiene con el método HF siempre será superior a la energía exacta del sistema. La energía obtenida con el método HF en el límite de una base infinita de funciones se conoce como *límite de Hartree-Fock*, y a la diferencia entre éste y la energía exacta se la denomina *energía de correlación*.

1.1.2. Conjuntos de bases de funciones

Un aspecto de relevancia en cualquier cálculo *ab initio* (cuando se eligen el nivel teórico y el método de cálculo) es la elección del conjunto de base de funciones. Éste debe ser lo suficientemente grande y flexible como para caracterizar bien los efectos de la perturbación considerada y tener en cuenta la correlación electrónica. Sin embargo, el tamaño del conjunto de bases está limitado en la práctica por los costos computacionales. Por lo tanto, existe un compromiso entre el tamaño del conjunto de bases y su adecuación y calidad para un cálculo químico cuántico específico. Como se mostrará más adelante, este problema es especialmente importante en los cálculos de la constante de acoplamiento entre espines. Según la aproximación *CLOA* (*combinación lineal de orbitales atómicos*),^[59] en un sistema molecular el conjunto de espín-orbitales moleculares del determinante de Slater puede construirse a partir de una combinación lineal de orbitales atómicos, o de forma más general, como combinación lineal de elementos de una base completa de funciones de forma algebraica conocida.

En una molécula la probabilidad de encontrar a un electrón en un determinado punto del espacio es máxima en zonas cercanas a los núcleos y disminuye progresivamente al alejarse de éstos. Para tener esto en cuenta a la hora de construir la función de onda, se emplea un conjunto de funciones de base centradas en las posiciones nucleares.^[59] Este conjunto debería ser lo más completo posible con objeto de poder reproducir de forma precisa cualquier función de onda. Una opción adecuada son los *orbitales tipo slater (STO)*:^[61]

$$\phi_{\zeta,n,l,m}(r, \theta, \varphi) = NY_{l,m}(\theta, \varphi)r^{n-1}e^{-\zeta r} \quad (1.1)$$

donde la parte angular está descrita por los armónicos esféricos $Y_{l,m}(\theta, \varphi)$. Estos orbitales reproducen de forma bastante fiel la distribución de los electrones en un átomo, pero su uso es costoso computacionalmente a la hora de calcular integrales bielectrónicas con tres y cuatro centros. En lugar de éstos, se emplean con frecuencia los *orbitales tipo gaussiano (GTO)*:^[61]

$$\phi_{\alpha,n,l,m}(r, \theta, \varphi) = NY_{l,m}(\theta, \varphi)r^{2n-2-l}e^{-\alpha r^2} \quad (1.2)$$

Éstos son mucho menos costosos computacionalmente comparados con los STO, pero tienen la desventaja que no representan adecuadamente el comportamiento de los electrones en regiones cercanas a los núcleos.

Para alcanzar un compromiso entre fidelidad en la representación de los electrones y bajo costo computacional, se recurre a elaborar combinaciones lineales de GTOs que simulen el comportamiento de un STO. Las bases de funciones más simples son las bases *STO-nGF*, en las cuales los orbitales atómicos tipo Slater se aproximan mediante n funciones de tipo gaussiano, es decir que cada orbital atómico se establece mediante una suma de n funciones de tipo gaussiano.^[62,63] Los coeficientes de las GTOs se eligen para que sus combinaciones lineales describan de modo aproximado orbitales tipo Slater. Este procedimiento incrementa el número de funciones elementales de la base; sin embargo, las funciones de tipo gaussiano se ajustan mucho mejor a los cálculos reales que las funciones de tipo Slater, y su uso reduce los costos

computacionales.

La calidad del cálculo puede mejorarse aplicando conjuntos de funciones desdoblados, en los que los orbitales atómicos se componen de dos o más partes: una parte interna (más compacta) y varias partes externas (más difusas). Cuando se construye un orbital molecular en un procedimiento autoconsistente, los coeficientes de cada parte del conjunto de funciones pueden variar independientemente. En conjuntos de base de funciones de valencia dividida, solo los orbitales de valencia se dividen en componentes compactos y difusos. Para aumentar la flexibilidad variacional se desarrollan las llamadas bases de funciones $n - \zeta$ (doble- ζ , triple- ζ), en las cuales la parte radial de cada orbital se desdobra en n funciones. Una variante de éstas son las bases de valencia desdoblada (o *split-valence*) en las cuales se emplea un orbital formado por varias funciones gaussianas primitivas contraídas para cada electrón del *core*, y para cada electrón de valencia el orbital se desdobra como una o varias funciones (formadas cada una por varias funciones gaussianas contraídas) y/o una o más gaussianas sin contraer. Estas bases suelen denotarse con el acrónimo $k-abcG$, donde k es el número de GTO contraídas para cada orbital del core (representados cada uno por una sola función), y a , b y c indican cuántos GTO se contraen en cada una de las varias funciones que se emplean para representar los orbitales de valencia. Por ejemplo, en la base $3-21G$ cada electrón del core está representado por una función que consta de tres GTO contraídas, y cada electrón de valencia por dos funciones, una formada por dos GTO contraídas y otra por un único GTO. En la base $6-311G$ (que pertenece a la familia de bases de funciones desarrolladas por Pople^[64]), para cada electrón del core, una función formada por seis GTO contraídas; y para cada electrón de valencia, tres funciones en la cual la primera consta de tres GTO contraídas y la segunda y tercera funciones son cada una un GTO, que se mantienen sin contraer (es decir, sus coeficientes en la combinación lineal son ajustables variacionalmente).^[65]

A estas bases se les pueden añadir más funciones. Por ejemplo, las llamadas *funciones de polarización*, que son funciones con un mayor valor del número cuántico angular que el que les correspondería a cada átomo por su posición en la tabla periódica.

ca, para modelar más adecuadamente el comportamiento de los orbitales afectados por polarización (por ejemplo, por la presencia de algún catión cercano). También se pueden incluir las llamadas *funciones difusas*, análogas a las de la base pero con menores exponentes α (y por tanto más extendidas en el espacio) que permiten modelar otros efectos como la expansión de la nube electrónica en el espacio de un anión. Las funciones de polarización se denotan añadiendo los signos * ó ** al final del acrónimo de la base, y las difusas anteponiendo los signos + ó ++ a la letra G del mismo. Se emplea un único * ó + cuando las funciones se añaden sólo a los átomos pesados (todos aquellos diferentes a los átomos de hidrógeno y helio), mientras que se emplean ** ó ++ se emplean para indicar que las funciones se añaden también a los átomos de hidrógeno y helio.

Además de las bases de Pople, en este trabajo se emplearon conjuntos de bases de funciones consistentes con la correlación desarrolladas por Dunning,^[66] optimizadas a nivel CISD (interacción de configuraciones con excitaciones simples y dobles) en lugar de hacerlo mediante el método HF. Estas funciones son del tipo cc-pVXZ, donde “cc-p” indica “*correlation-consistent polarized*” (pues incluyen de manera sucesiva funciones de polarización), “V” indica “*valence-only*” y X = T (triple), Q (cuádruple), etc. Sus versiones aumentadas aug-cc-pVXZ incluyen funciones difusas a fin de permitir la descripción de interacciones de largo alcance, como las fuerzas de van der Waals. Las funciones del tipo cc-pCVXZ y aug-cc-pCVXZ, permiten una mejor descripción de la correlación de electrones del core.

1.1.3. Conjunto de bases localmente densas

Cuando se consideran sistemas de gran tamaño, los cálculos teóricos tienen muchas limitaciones computacionales. El escalamiento formal en los cálculos *ab initio* es de (al menos) N^4 de los recursos computacionales (siendo N el número de funciones que forman las bases), agregado al esfuerzo adicional asociado con el cálculo de propiedades al segundo orden. Es así de vital importancia la utilización de vías alternativas para disminuir el costo asociado con los cálculos, manteniendo su precisión.

La idea general del esquema *LDBS* (*locally dense basis set*, por sus siglas en inglés), es muy simple: consiste en emplear conjuntos de base de alta calidad sobre átomos particulares y sobre su primera esfera de enlace, y bases más pequeñas en el resto de la molécula, sin generar grandes pérdidas en la precisión de los cálculos. Se logra así un apreciable decrecimiento de las demandas computacionales.

Este esquema de partición del sistema empleando un conjunto de bases de funciones más densas a nivel local, fue explorado primero por Chestnut y Moore^[67] y ha sido de uso común desde entonces en la RMN,^[68–71] debido a que mostró ser muy efectivo en el cálculo de corrimientos químicos y constantes de acoplamiento J ; en particular dentro de la aproximación GIAO (*Gauge Including Atomic Orbitals*).^[72]

1.2. Teoría del funcional de la densidad

1.2.1. Teoremas y ecuaciones fundamentales

La teoría del funcional de la densidad consiste en describir la dinámica electrónica una forma radicalmente diferente a las de Schrödinger. En lugar de calcular la energía electrónica determinando una función de onda aproximada, la energía se escribe en términos de la densidad electrónica, $\rho(\mathbf{r}_1)$. Se apoya en los dos teoremas fundamentales de *Hohenberg-Kohn*:^[73]

1. Para cada propiedad del sistema existe un funcional de la densidad que la determina.
2. Para cualquier densidad electrónica de prueba ρ_t aceptable (tal que $\int \rho_t(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = \int \rho_0(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N$ y $\rho_r(\mathbf{r}) \geq 0$) se cumple el principio variacional, $E[\rho_t] \geq E_0$

A partir de los teoremas de existencia y variacional, se puede escribir el funcional de la energía para un sistema polielectrónico (sin incluir aún explícitamente el término de repulsión internuclear) como^[73]

$$E[\rho] = T[\rho] + E_{ee}[\rho] + \int V_{ext}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} = F[\rho] + \int V_{ext}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad (1.3)$$

donde los funcionales de la energía cinética $T[\rho]$ y $E_{ee}[\rho]$, englobados en el funcional $F[\rho]$, son funcionales universales, es decir que no dependen del potencial externo.

La minimización directa del funcional $E[\rho]$ de los teoremas de Hohenberg-Kohn presenta el problema de que la forma exacta del funcional $F[\rho]$ es desconocida. Para superar este problema, Kohn y Sham introdujeron el concepto de un sistema ficticio de “electrones no interactuantes” en el seno de un potencial efectivo V_{eff} , que por definición tiene igual densidad electrónica que la del sistema verdadero.^[74] Este esquema permite reemplazar la minimización directa de $E[\rho]$ con respecto a la densidad ρ de la ecuación anterior, por la solución autoconsistente de un sistema de N ecuaciones monoeléctricas, en una aproximación parecida a la de Hartree-Fock. La forma funcional $E[\rho]$ considerada por Kohn y Sham es la siguiente:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + E_H[\rho] + E_{xc}[\rho] + \int V_{ext}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad (1.4)$$

donde $T_s[\rho]$ es la contribución cinética *exacta* a la energía del estado fundamental del sistema ficticio. El segundo término es la energía de Hartree

$$E_H[\rho] = \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}d\mathbf{r}' \quad (1.5)$$

que corresponde a la energía clásica de interacción electrostática de una nube de carga consigo misma (y que contiene una componente incorrecta de auto-interacción electrónica, ya que al considerar que interaccionan dos partes cualesquiera de la nube de carga se está introduciendo una interacción de cada electrón consigo mismo). El término $E_{xc}[\rho]$ queda definido como

$$E_{xc}[\rho] = T[\rho] - T_s[\rho] + E_{ee}[\rho] - E_H[\rho] \quad (1.6)$$

de forma que contiene la diferencia entre T y T_s y la parte no clásica de E_{ee} .

Matemáticamente, el problema de resolver las ecuaciones KS es análogo al de las ecuaciones HF, de forma que el mismo esquema ideado por Roothaan para resolver las ecuaciones HF con métodos matriciales se emplea con las ecuaciones KS. En este caso, el análogo a la matriz de Fock es la matriz de Kohn-Sham. En principio, este método proporciona la densidad y energía exactas del estado fundamental (y por extensión, al quedar el hamiltoniano perfectamente determinado, también proporcionaría todas las propiedades de los estados excitados). Sin embargo, el hecho de que la forma exacta de $E_{xc}[\rho]$ sea desconocida obliga a realizar aproximaciones.

La gran ventaja de la aproximación DFT con respecto a HF es que en aquella sí se pueden incluir términos que incorporen la correlación electrónica. Sin embargo, esto no hace que la energía predicha por la DFT sea siempre más cercana a la real que la energía predicha por HF, ya que la DFT cumple el teorema variacional para el funcional exacto, el cual es desconocido, y el funcional concreto que se esté empleando podría sobreestimar la energía de correlación y obtener una energía por debajo de la energía real del sistema. Otra ventaja de la DFT por la cual ha ganado gran popularidad y se ha convertido en una de las herramientas más utilizadas para cálculos de estructura molecular, es la menor demanda de costos computacionales sumada a tiempos de cálculo reducidos, comparados con los métodos *ab initio*.

1.2.2. Funcionales de correlación-intercambio

Se han propuesto un gran número de funcionales de correlación-intercambio dentro de diversas aproximaciones:

- En la *aproximación de la densidad local (LDA)* se asume que la energía de correlación-intercambio es una propiedad local. Si se expresa el funcional de correlación-intercambio como $E_{xc}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r})\varepsilon_{xc}[\rho]d\mathbf{r}$, el funcional $\varepsilon_{xc}[\rho]$ (la energía de correlación-intercambio por partícula) es función sólo de la densidad en el punto en que se evalúe y no de la densidad en la vecindad de ese punto.
- La *aproximación de la densidad de espín local (LSDA)* es la generalización de

la LDA al caso de espín no restringido: $E_{xc}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int \rho(\mathbf{r})\varepsilon_{xc}[\rho_\alpha, \rho_\beta]d\mathbf{r}$.

- La *aproximación del gradiente generalizado (GGA)* es de tipo semilocal, es decir que la energía de correlación-intercambio depende no sólo de la densidad en cada punto, sino también de la densidad en su vecindad, y el funcional tiene la forma $E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int f(\rho, \nabla\rho)d\mathbf{r}$.
- los funcionales *híbridos* incluyen un término con parte del intercambio exacto (HF) y otros obtenidos cada uno a partir de una aproximación distinta.

En el presente trabajo se utilizaron varios funcionales; entre ellos el funcional híbrido B3LYP, que tiene la forma:^[75]

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a)E_x^{LSDA} + aE_x^{HF} + b\Delta E_x^{B88} + (1 - c)E_c^{VWN} + cE_c^{LYP} \quad (1.7)$$

donde $a = 0.20$, $b = 0.72$, $c = 0.81$. E_x^{LSDA} es el funcional de intercambio de Slater,^[76] E_c^{VWN} es el funcional de correlación de Vosko, Wilk y Nusair,^[77] E_x^{HF} es el funcional de intercambio exacto calculado por el método de Hartree-Fock, E_c^{LYP} es el funcional de correlación de Lee, Yang y Parr,^[78] y $\Delta E_x^{B88} = E_x^{B88} - E_x^{LSDA}$, siendo E_x^{B88} el funcional de correlación de Becke88.^[79] Los parámetros a , b y c se ajustaron para que sus resultados se acercaran tanto como fuera posible a los resultados experimentales (razón por la cual algunos autores no consideran a los métodos DFT como puramente *ab initio* sino más bien semiempíricos).

Otro funcional híbrido empleado en esta tesis es BHandHLYP, que tiene la forma:

$$E_{xc}^{BHandHLYP} = (0,5)E_x^{HF} + (0,5)E_x^{B88} + E_c^{LYP} \quad (1.8)$$

Sin embargo, el cálculo de las propiedades de respuesta con diferentes funcionales no produce la misma precisión en los resultados. El cálculo de propiedades magnéticas es uno de los ejemplos en los que no son adecuados los funcionales convencionales de la DFT. Es por ello que Keal y Tozer han desarrollado una serie de funcionales dentro del formalismo GGA por medio de la inclusión de un término de

gradiente corregido (intercambio KT) a la aproximación de la densidad local (funcional LDA).^[80] De esta manera obtuvieron valores de constantes de apantallamiento muy precisas a partir de funcionales KT1, KT2 y KT3.^[52,53] En este trabajo se emplearon las dos últimas.

1.2.3. Interacciones de dispersión

Las interacciones de dispersión, debidas a la presencia de dipolos instantáneos en especies vecinas, son menos específicas que las interacciones electrostáticas en cuanto a su direccionalidad. En su mayoría contribuyen a la estabilidad de un grupo, mientras que su estructura está determinada por las interacciones electrostáticas. La consideración de la energía de dispersión es de vital importancia en las interacciones de apilamiento o stacking en biomacromoléculas, en las cuales éste puede ser el término atractivo dominante.^[12,81-83]

Existen funcionales que incluyen correcciones dispersivas de la energía y fueron desarrolladas por Grimme.^[84] La inclusión de este tipo de correcciones dio muy buenos resultados y son fundamentales al momento de estudiar interacciones no covalentes. En los sistemas que se estudian en este trabajo, la presencia de interacciones no covalentes como enlaces de hidrógeno y stacking $\pi - \pi$ son fundamentales tanto en la formación como en el mantenimiento de la estructura molecular. En función de ello, se evaluó la performance de una funcional de este tipo en el estudio de interacciones magnéticas. En este caso se empleó el funcional B97-D^[57], que consiste en una reparametrización debida a Grimme del funcional B97^[85] con la inclusión de correcciones empíricas de la dispersión.

1.3. Teoría de propagadores de polarización

El perturbar un sistema cuántico de diferentes maneras permite obtener información sobre él. El tipo de perturbaciones que son adecuadas para el análisis de los parámetros espectroscópicos de la RMN en sistemas de N electrones está asociado a

las interacciones con campos que son externos al sistema sin perturbar. El “perturbador” da cuenta de esas interacciones que cambian el estado de un electrón desde un orbital i ocupado definido, a un orbital a vacante. Este perturbador puede ser “local” o “no local” dependiendo de que, tanto los orbitales i como a , estén cerca o lejos del lugar donde la perturbación externa interactúa con el sistema electrónico. Cuando se “enciende” la perturbación el sistema evoluciona de manera definida de acuerdo con su Hamiltoniano no perturbado, es decir, de una manera determinada por su estructura electrónica interna. Más adelante, todo el sistema electrónico se verá afectado, por lo que cualquier electrón que se encontraba en un orbital j se puede encontrar en el orbital b . De esta manera se puede analizar la energía de interacción correspondiente mediante el uso de un segundo campo externo, es decir, la contribución al parámetro espectroscópico del perturbador definido por la excitación $j \rightarrow b$. Esta imagen refleja de qué trata el propagador de polarización (PP).^[86–88]

En la formulación de la Mecánica Cuántica mediante integrales de caminos, se necesita definir una cantidad, el *propagador* $K(t_f, \mathbf{r}_f; t_i, \mathbf{r}_i)$, el cual relaciona los valores de la función de onda entre dos tiempos y posiciones diferentes, (t_i, \mathbf{r}_i) y (t_f, \mathbf{r}_f) a través de la ecuación^[89]

$$\psi(t_f, \mathbf{r}_f) = \int K(t_f, \mathbf{r}_f; t_i, \mathbf{r}_i) \psi(t_i, \mathbf{r}_i) d\mathbf{r}_i \quad (1.9)$$

El propagador está relacionado a la amplitud de probabilidad de que una partícula descrita por una función de onda ψ en la posición \mathbf{r}_i y al tiempo t_i esté descrita por otra función de onda en la posición \mathbf{r}_f y en el tiempo t_f . El punto principal a destacar aquí es que tal probabilidad involucra al conjunto completo de posiciones intermedias a través del cual la partícula puede alcanzar el punto (t_f, \mathbf{r}_f) habiendo comenzado en (t_i, \mathbf{r}_i) . Puede decirse entonces que la partícula, en la formulación de integrales de caminos, sigue todos los caminos posibles que conectan los puntos inicial y final.

En la teoría de respuesta lineal se describe cómo evoluciona el valor promedio de un operador arbitrario P cuando se enciende una perturbación externa descrita por

un operador Q . Los propagadores de polarización son equivalentes a las funciones de Green de dos tiempos.

El PP se define como^[90]

$$i\langle\langle P(x); Q(y) \rangle\rangle = \hbar\theta(t - x - t_y)\langle 0|P(\mathbf{r}_x)Q(\mathbf{r}_y)|0\rangle + \hbar\theta(t - y - t_x)\langle 0|Q(\mathbf{r}_y)P(\mathbf{r}_x)|0\rangle \quad (1.10)$$

donde x e y representan los puntos espacio temporales $x = (t_x, \mathbf{r}_x)$ e $y = (t_y, \mathbf{r}_y)$, respectivamente. El estado de referencia $|0\rangle$ puede elegirse apropiadamente de acuerdo al régimen considerado.

Dado que el PP tiene la misma naturaleza cuántica básica que la de una función de onda ψ , se puede buscar su ecuación de movimiento, es decir, cómo evoluciona la polarización con el tiempo. Se pueden escribir explícitamente las expresiones para tal ecuación de movimiento y resolverla mediante procedimientos formales.^[88,91] Además se pueden transformar las expresiones dependientes del tiempo a las que son dependientes de la energía de manera de hacer uso de esta herramienta en problemas espectroscópicos.

La ecuación de movimiento del propagador se deriva de la aplicación de la ecuación de movimiento de Heisenberg a los operadores dependientes del tiempo $\mathbf{P}(t)$ y $\mathbf{Q}(t')$, de acuerdo a la expresión^[92]

$$E\langle\langle \mathbf{P}; \mathbf{Q} \rangle\rangle_E = \langle 0|[\mathbf{P}, \mathbf{Q}]|0\rangle + \langle\langle \mathbf{P}; [\mathbf{H}_0, \mathbf{Q}] \rangle\rangle_E \quad (1.11)$$

donde H_0 es el Hamiltoniano no perturbado que describe el sistema electrónico, y $|0\rangle$ representa el estado de referencia que en este caso será un estado monodeterminantal compuesto de funciones de onda monoeléctricas que son soluciones de las ecuaciones de Hartree-Fock, en el régimen no relativista. Esta expresión indica que el propagador se puede escribir como la suma de la media del conmutador sobre el estado fundamental del sistema y el propagador que contiene un conmutador con el Hamiltoniano no perturbado del sistema. Resolviendo iterativamente la expresión 1.11 se puede obtener la expansión del momento de los propagadores de polarización.

La ecuación de movimiento para el PP se reduce a la forma final aplicando el álgebra de superoperadores y la técnica de proyección interna, obteniendo:^[93,94]

$$\begin{aligned}\langle\langle P; Q \rangle\rangle_E &= (P|\mathbf{h})(\mathbf{h}|\omega\hat{\mathbf{I}} - \hat{\mathbf{H}}|\mathbf{h})^{-1}(\mathbf{h}|Q) \\ (P|Q) &= \langle 0|[P^\dagger, Q]|0\rangle \\ \hat{H}P &= [H, P]\end{aligned}\tag{1.12}$$

En estas expresiones \mathbf{h} es un conjunto completo de operadores de excitación, los que pueden usarse para describir el conjunto completo de estados de excitación partiendo del estado no perturbado $|0\rangle$; los operadores P y Q son también descriptos en términos de operadores de excitación que pertenecen a \mathbf{h} .

La experiencia en estudios teóricos en el campo de la química cuántica demostraron que los cálculos de las interacciones entre partículas en H_0 para un sistema de N partículas en presencia de la perturbación, deben corregirse empleando aproximaciones de órdenes superiores al primer orden para obtener resultados confiables.

1.3.1. Nivel de aproximación RPA

Los esquemas de cálculo que aplican el formalismo del PP de manera aproximada se basan en teoría de perturbaciones. Se requiere expresar de un modo aproximado el conjunto de operadores de excitación y la función de onda del estado fundamental del sistema. La aproximación de primer orden o RPA (*random phase approximation*)^[95], requiere la consideración de excitaciones simples y que la función de onda del estado fundamental sea la de Hartree-Fock. La aproximación RPA corresponde aproximadamente al nivel de la teoría de interacción de configuraciones (CI); es decir, incluye correlación electrónica a un nivel inicial. La aproximación RPA no es adecuada para los cálculos de la constante de acoplamiento entre espines \mathbf{J} , porque su precisión en sistemas no saturados es inadecuada en comparación con otras técnicas que incluyen de manera más completa los efectos de correlación electrónica.^[96-98]

1.3.2. Aproximación SOPPA

La *aproximación del propagador de polarización de segundo orden* (SOPPA),^[54–56,95,99,100] incluye los operadores de excitaciones simples y dobles. A su vez la función de onda del estado fundamental contiene correcciones adicionales dentro de la teoría de perturbaciones de Møller-Plesset de segundo orden (MP2) con configuraciones simple y doblemente excitadas. Con respecto a la correlación electrónica, el esquema SOPPA es comparable con el método CISD (*interacción de configuraciones con excitaciones simples y dobles*). Los cálculos a nivel SOPPA de aproximación, escalan con la quinta potencia del número de funciones de la base.

1.4. Dinámica molecular

Muchos sistemas químicos y bioquímicos de interés son demasiado grandes para su análisis con métodos de la mecánica cuántica, ya sean *ab initio* o semiempíricos. Además, cuando se pretende incluir de manera explícita moléculas de solvente, la complejidad de las macromoléculas es aún mayor. Sin embargo, algunas de sus propiedades pueden ser modeladas por métodos clásicos como los de la dinámica molecular. Aunque no proporcionan información acerca de la estructura electrónica del sistema bajo estudio, permite analizar el comportamiento o evolución de éste y establecer la conformación de menor energía, lo cual será de utilidad en el capítulo 5 de este trabajo.

En la dinámica molecular (MD, por sus siglas en inglés), las configuraciones sucesivas del sistema se generan mediante la integración de las leyes del movimiento de Newton. El resultado es una trayectoria que especifica cómo las posiciones y velocidades de las partículas en el sistema varían con el tiempo. La trayectoria se obtiene resolviendo las ecuaciones diferenciales correspondientes a la segunda ley de Newton ($F = ma$):

$$\frac{d^2x_i}{dt^2} = \frac{F_{x_i}}{m_i} \quad (1.13)$$

Esta ecuación describe el movimiento de una partícula de masa m_i a lo largo de una coordenada x_i , siendo F_{x_i} la fuerza sobre la partícula en esa dirección.

En términos sencillos, la dinámica molecular consiste en resolver numéricamente las ecuaciones clásicas de movimiento para un grupo de átomos. Para que esto suceda, se necesita contar con una ley que revele cómo los átomos interactúan entre sí en el sistema. Esta ley combinada con las posiciones atómicas, permite determinar la energía potencial asociada, las fuerzas en los átomos y la tensión en las paredes del contenedor. Aunque tal ley es generalmente desconocida, se pueden usar aproximaciones que difieren en precisión y realismo dependiendo de un campo de fuerza, o modelos construidos después de realizar cálculos de estructura electrónica, que también se pueden hacer en diferentes niveles de teoría.^[101] También es necesario tener un algoritmo que incorpore numéricamente las ecuaciones de movimiento para los átomos en el sistema.

Hasta el presente se propusieron muchos enfoques diferentes en esta dirección. Por supuesto, no se pueden resolver las ecuaciones de movimiento, a menos que se cuente con valores iniciales, como las posiciones y velocidades iniciales para cada átomo en el sistema. Todo lo anterior es suficiente para realizar una simulación de MD.

En las simulaciones de MD, la energía cinética del sistema dependerá de la temperatura^[102] y la energía total será la suma de los componentes cinéticos y potenciales. La aceleración de cada átomo se estima a partir del conjunto de fuerzas determinado mediante el campo de fuerza dado. Los resultados generados se pueden usar para estimar la información de configuración y momento para cada átomo del sistema (es decir, energía y presión).

Se han hecho dos suposiciones adicionales aparte de la aproximación numérica básica involucrada en la integración de las ecuaciones de movimiento, que son fundamentales para las simulaciones de MD. Según la primera, el comportamiento de los átomos es similar a las entidades clásicas, lo que significa que obedecen las ecuaciones de movimiento de Newton.^[103] La precisión de este enfoque está relacionada con el sistema que se estudia, así como con las condiciones de simulación. Se espera que

el enfoque mencionado anteriormente no esté refinado para átomos livianos a bajas temperaturas, pero en general, no es un mal enfoque. Además del helio líquido y otros átomos livianos, normalmente, los efectos cuánticos sobre la dinámica atómica son bastante pequeños. En los casos en que los efectos cuánticos no se pueden ignorar, se puede utilizar el enfoque integral de trayectoria o un método relativo. El segundo supuesto básico tiene que ver con el modelado de cómo los átomos interactúan entre sí en el sistema. La única manera de formar una imagen funcional de los procedimientos atómicos en el sistema es tener una descripción representativa de esas interacciones. Por el contrario, al recopilar información sobre una clase significativa del sistema, como los gases de baja densidad o los metales líquidos, no hay necesidad de una descripción de alta precisión, un modelo que capture las características esenciales, la física definitoria de una clase significativa es aceptable.^[104] Por lo tanto, es crucial saber en profundidad cómo debe ser una descripción para un caso en particular.

Capítulo 2

Resonancia Magnética Nuclear

Cuando se sintetiza un nuevo compuesto químico, uno de los primeros estudios que se llevan a cabo es la determinación de su espectro de resonancia magnética nuclear. Debido a la sensibilidad de los parámetros de la RMN como los corrimientos químicos (δ) o las constantes de acoplamiento indirecto J a las características estructurales y conformacionales de una molécula, los datos espectrales de la RMN proporcionan de manera relativamente fácil información útil sobre la identidad y la estructura del compuesto. Solo después de que se hayan realizado estas primeras investigaciones de RMN, usualmente se decide si se debe realizar una determinación directa de la estructura con otros métodos como rayos X, difracción de electrones o espectroscopia de microondas o si se desea una caracterización espectroscópica, termoquímica, etc. más detallada. Sin embargo, todas estas investigaciones adicionales requieren en la mayoría de los casos mucho más tiempo y esfuerzos que las mediciones de RMN.

La información contenida en un espectro de RMN se puede ampliar y completar con la ayuda de cálculos químico-cuánticos de los parámetros de RMN. Lo usual es calcular los parámetros espectroscópicos de la RMN y luego compararlos con los datos experimentales. Si los dos conjuntos de datos concuerdan, es muy probable que el compuesto en cuestión posea la estructura molecular utilizada en el cálculo y, por lo tanto, se identifique positivamente. A su vez, el análisis teórico genera nuevo conocimiento sobre la estructura electrónica molecular y sobre el origen de los efectos

electrónicos involucrados en el valor de dichos parámetros.

2.1. El fenómeno de la RMN

La existencia del espín nuclear fue sugerida por primera vez por Pauli en 1924, un año antes de que se discutiera la idea del espín electrónico, a fin de explicar los desdoblamientos o splittings del espectro atómico.^[105] Estos desdoblamientos demuestran que los núcleos de diferentes elementos (y diferentes isótopos del mismo elemento) difieren en su momento angular de espín. Las transiciones entre niveles de energía del espín nuclear dan origen al fenómeno de la RMN.

El momento angular orbital y el momento angular de espín dan origen al momento magnético total, y el hecho de que los electrones y los núcleos poseen momento magnético significa que en cierto modo se comportan como pequeños imanes.

El número cuántico de espín, I , es una propiedad característica fija del núcleo y puede ser entero o semientero. Cuando un campo magnético de magnitud B se aplica en la dirección z , la energía de interacción entre un núcleo con momento magnético μ y el campo se expresa como

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B} = -\mu_z \cdot B \quad (2.1)$$

Siendo el momento magnético proporcional al momento angular

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{I} \quad (2.2)$$

$$\mu = \gamma \hbar [I(I + 1)]^{1/2} \quad (2.3)$$

donde γ es la razón giromagnética del núcleo dado, una característica empírica que surge de la estructura interna del núcleo. La componente μ_z en el caso del espín nuclear, está definida por m_{I_z} ,

$$\mu_z = \gamma \hbar m_{I_z} \quad (2.4)$$

y por lo tanto, la energía de interacción magnética del espín nuclear con el campo magnético externo viene dada por

$$E = -\gamma\hbar m_{I_z} B \quad (2.5)$$

En esta situación existirán $(2I+1)$ niveles de energía no degenerados, correspondientes a los $2I+1$ valores de m_I , cada uno separado por $|\gamma\hbar B|$. En principio se pueden inducir transiciones entre estos niveles usando radiación electromagnética apropiada. Dichas transiciones serán gobernadas por la condición de frecuencia de Bohr, en la cual la energía se transfiere cuando ΔE (la diferencia entre niveles de energía) es igual a $h\nu$, donde ν es la frecuencia de radiación. De esta manera para transiciones de RMN de un único núcleo

$$h\nu = |\gamma\hbar B \Delta m_I| \quad (2.6)$$

$$\nu = |(\gamma 2\pi) B \Delta m_I| \quad (2.7)$$

La regla de selección de las transiciones es $\Delta m_I = \pm 1$. Por tanto

$$\nu = |\gamma 2\pi| B \quad (2.8)$$

Los estudios de RMN requieren frecuencias del orden de la decena hasta varios cientos de Mhz, valores que pertenecen al rango de las radiofrecuencias.

2.1.1. Frecuencia de Larmor

Se puede profundizar el conocimiento acerca de la naturaleza de la absorción de resonancia considerando el movimiento de un dipolo magnético en un campo magnético. Dado que el momento magnético $\boldsymbol{\mu}$ y el momento angular \mathbf{I} se relacionan por

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{I} \quad (2.9)$$

la ecuación clásica de movimiento puede escribirse vectorialmente como

$$\frac{d\boldsymbol{\mu}}{dt} = \gamma(\boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B}) \quad (2.10)$$

Si se rota el vector $\boldsymbol{\mu}$ con una velocidad angular cuya magnitud y dirección están dadas por el vector $\boldsymbol{\omega}$,

$$\frac{d\boldsymbol{\mu}}{dt} = \boldsymbol{\omega} \times \boldsymbol{\mu} \quad (2.11)$$

Comparando estas dos ecuaciones puede verse que el efecto del campo \mathbf{B} es equivalente a la rotación con velocidad angular

$$\boldsymbol{\omega} = -\gamma\mathbf{B} \quad (2.12)$$

En un campo externo y constante \mathbf{B}_0 , el resultado neto corresponde a una rotación de $\boldsymbol{\mu}$ en un cono con su eje a lo largo de \mathbf{B}_0 . Este movimiento es análogo al de un giroscopio, y se conoce como *precesión de Larmor*. Tiene velocidad angular dada por $-\gamma\mathbf{B}_0$. De esta manera la frecuencia de Larmor se define como

$$\nu_i = |\gamma/2\pi| B_0 \quad (2.13)$$

El ángulo entre $\boldsymbol{\mu}$ y \mathbf{B}_0 en la precesión está determinado por el número cuántico m_I : $\cos\theta = m_I/[I(I+1)]^{1/2}$. Para un núcleo de espín 1/2, los dos estados de espín $m_I = +1/2$ y $m_I = -1/2$ a menudo son referidos como α y β , y se distribuyen en dos conos de precesión.

Si luego se introduce un campo magnético débil \mathbf{B}_1 , oscilatorio y perpendicular al plano formado por $\boldsymbol{\mu}$ y \mathbf{B}_0 , y además se ajusta su frecuencia a la misma frecuencia y dirección de precesión de $\boldsymbol{\mu}$, entonces \mathbf{B}_1 ejercerá un torque sobre $\boldsymbol{\mu}$ que tenderá a cambiar el ángulo θ . Debido a que el cambio de θ se corresponde con un cambio de energía del sistema núcleo-campo, esta condición se describe como resonancia. La energía requerida para el cambio de θ proviene del campo \mathbf{B}_1 , la cual corresponde a una radiación electromagnética en el rango de las radiofrecuencias.

2.2. Apantallamientos magnéticos

Los núcleos no interactúan con el campo magnético externo (\mathbf{B}_0) sino con un campo magnético diferente, que se modifica debido al apantallamiento o *shielding* (σ) de los electrones que rodean al núcleo. Dado que los electrones son partículas con carga eléctrica, sus movimientos son influidos cuando se los coloca en presencia de un campo externo. De este modo se generan campos magnéticos secundarios que se oponen o potencian al externo. Por lo tanto el campo magnético en la posición del núcleo se debe expresar como

$$\mathbf{B}_{nucleo} = \mathbf{B}_0 - \sigma\mathbf{B}_0 = \mathbf{B}_0(1 - \sigma) \quad (2.14)$$

Debido a que el efecto de apantallamiento es causado por el entorno electrónico, los valores de σ variarán con la posición del núcleo en la molécula. Todos los factores que afecten la densidad electrónica también afectarán a σ . La condición de resonancia viene entonces dada por

$$\nu_K = |\gamma/2\pi| B_0(1 - \sigma_K) \quad (2.15)$$

donde ν_K es la frecuencia de resonancia (frecuencia de Larmor) para el núcleo K .

El apantallamiento magnético nuclear es un tensor de segundo rango y expresa una propiedad importante de la molécula.

2.2.1. Contribuciones diamagnética y paramagnética

Para un sólo átomo libre en un estado electrónico s esféricamente simétrico, Lamb demostró que el efecto de un campo magnético aplicado sobre el mismo es inducir una corriente de electrones que conduce a un apantallamiento diamagnético,^[106]

$$\sigma^d = \frac{4\pi e^2}{3mc^2} \int_0^\infty r \rho_e(r) dr \quad (2.16)$$

Aquí $\rho_e(r)$ es la densidad de electrones en función de la distancia radial desde el núcleo, y e , m_e , y c son las constantes fundamentales usuales. Para las moléculas, la

teoría de Lamb es inadecuada porque supone que los electrones son libres de moverse en cualquier dirección, mientras que en una molécula el movimiento electrónico está severamente restringido. Ramsey aplicó la teoría de perturbaciones de segundo orden para desarrollar una fórmula que, en principio, representa el apantallamiento en las moléculas y durante mucho tiempo ha proporcionado un marco adecuado para la comprensión cualitativa de los principales factores que contribuyen al apantallamiento magnético. La expresión de Ramsey es la suma de dos términos,^[107]

$$\sigma = \sigma^d + \sigma^p \quad (2.17)$$

σ^d es un término de primer orden que se puede calcular a partir del estado electrónico fundamental. Es esencialmente la expresión de Lamb y a menudo se denomina *término diamagnético* porque es positivo y por lo tanto causa una reducción del campo magnético en el núcleo y un apantallamiento del núcleo. σ^p es un término de perturbación de segundo orden que requiere un conocimiento de las funciones de onda y las energías de los estados excitados, incluyendo el continuo de estados electrónicos por encima del límite de ionización. σ^p es negativo, refuerza el campo magnético aplicado y desapantalla el núcleo. Se lo denomina *término paramagnético* y corrige el hecho de que los electrones en una molécula no se disponen con simetría esférica sobre el núcleo en cuestión. Por lo tanto, la presencia de electrones ocupando orbitales atómicos tipo *p* o *d* cerca del núcleo es un factor importante para determinar la magnitud de σ^p .

Los efectos magnéticos son muy pequeños en comparación con las interacciones electrónicas y son entonces tratados adecuadamente por teoría de perturbaciones, en la que el campo magnético externo está representado por un potencial vectorial magnético \mathbf{A} relacionado con \mathbf{B} de acuerdo a

$$\mathbf{B} = \nabla \times \mathbf{A} \quad (2.18)$$

Sin embargo, este potencial vectorial no es único, dado que la adición del gradiente de cualquier función escalar diferenciable produce el mismo campo magnético. El

campo magnético externo y el creado por el núcleo K en la posición R_K introducen el Hamiltoniano en forma de sus potenciales vectoriales

$$\mathbf{A}(\mathbf{R}) = \frac{1}{2}\mathbf{B} \times (\mathbf{r} - \mathbf{R}_G) + \frac{\boldsymbol{\mu}_K \times (\mathbf{r} - \mathbf{R}_K)}{|\mathbf{r} - \mathbf{R}_K|^3} \quad (2.19)$$

De esta manera el potencial vectorial generado por un campo magnético estático externo no es único porque depende de un parámetro arbitrario \mathbf{R}_G , llamado *origen de gauge*.

Conviene colocar el origen de gauge en un átomo específico o en otra parte de la molécula. σ^d y σ^p contienen términos que dependen de la elección del origen de gauge. Sin embargo, estos términos son de signo opuesto y se cancelan en un cálculo exacto del apantallamiento total, $\sigma = \sigma^d + \sigma^p$ porque σ debe ser invariante respecto de la posición del gauge para representar una propiedad física medible. Sin embargo, la cancelación incompleta puede ocurrir cuando σ^p se calcula con funciones de onda aproximadas y estimaciones de energías de los estados excitados, lo que conduce a un apantallamiento dependiente del gauge y, por lo tanto, incorrecto.

Desde un punto de vista empírico, puede considerarse que el apantallamiento magnético es la suma de tres contribuciones. La contribución local, $\sigma(\text{local})$, es la contribución de los electrones del átomo en cuestión, la que a su vez corresponde a la suma de las contribuciones diamagnética y paramagnética. La contribución del grupo vecino, $\sigma(\text{vecino})$, corresponde a la de los grupos de átomos que forman el resto de la molécula. Por último $\sigma(\text{solvente})$ es la contribución de las moléculas del solvente.

2.2.2. Corrimientos químicos. Compuestos de referencia y escala de medida

El corrimiento químico o *chemical shift*, δ , es el parámetro de la RMN más fácilmente medible y provee información estructural importante. Tiene su origen en el apantallamiento magnético producido como consecuencia del movimiento de los electrones.

Los parámetros espectroscópicos de la RMN se pueden medir en unidades de frecuencia (hertz) a partir de la referencia elegida. Para los corrimientos químicos, sin embargo, el uso de unidades de frecuencia tiene como desventaja la dependencia con el valor del campo magnético y con la relación de Larmor (ecuación 2.13). Por lo tanto, es habitual y deseable informar los corrimientos en la unidad adimensional de partes por millón (ppm), que es independiente de la frecuencia o la intensidad del campo magnético. Se puede ver la relación entre una escala adimensional y el apantallamiento σ . Con la inclusión del apantallamiento, la ecuación de Larmor se convierte en

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 (1 - \sigma_K) \quad (2.20)$$

En un campo B_0 , la muestra y el compuesto de referencia con apantallamientos σ_K y σ_R respectivamente, tienen frecuencias de resonancia ν_K y ν_R . Entonces el corrimiento químico δ se define por

$$\delta \equiv \frac{\nu_y - \nu_R}{\nu_R} 10^6 \quad (2.21)$$

lo que se transforma en

$$\delta = \frac{(1 - \sigma_y) - (1 - \sigma_R)}{(1 - \sigma_R)} 10^6 = \frac{\sigma_R - \sigma_y}{1 - \sigma_R} 10^6 \approx (\sigma_R - \sigma_y) 10^6 \quad (2.22)$$

dado que $\sigma_R \ll 1$. De esta manera un corrimiento δ grande se corresponde con un shielding σ pequeño. La escala de δ claramente es adimensional, pero con el factor de 10^6 tiene unidades de partes por millón (ppm).

Un compuesto de referencia interna es un compuesto que genera una señal de gran intensidad y una línea aguda dentro de un espectro de RMN. Se disuelve directamente en la solución de la muestra en estudio y luego se dispersa uniformemente a nivel molecular a través de la muestra. El campo magnético actúa igualmente sobre la muestra y las moléculas de referencia. El tetrametilsilano (TMS) se convirtió en el compuesto de referencia interno establecido para la RMN de ^1H , dado que tiene una

línea de resonancia fuerte y aguda a partir de sus 12 protones, con un desplazamiento químico a baja frecuencia de resonancia en relación con casi todas las demás resonancias de ^1H . Por lo tanto, la adición de TMS generalmente no interfiere con otras resonancias. Además es bastante volátil, por lo tanto, puede eliminarse fácilmente si se requiere la recuperación de la muestra. El TMS es soluble en la mayoría de los solventes orgánicos pero tiene muy baja solubilidad en agua y generalmente no se usa como referencia interna en soluciones acuosas.

2.3. Acoplamientos indirectos entre espines nucleares

El acoplamiento (dipolar) directo entre espines nucleares se promedia a cero debido al movimiento molecular en líquidos isotrópicos. Sin embargo el acoplamiento indirecto entre espines nucleares no se promedia a cero, como se muestra por las observaciones del desdoblamiento fino en espectros RMN. Este acoplamiento es indirecto ya que se transmite a través de los electrones en el sistema. El acoplamiento que se transmite a través de los electrones ocurre por más de un mecanismo. Ramsey y Purcell inicialmente sugirieron el mecanismo básico para la interacción de acoplamiento, que involucra a los electrones que forman enlaces químicos.^[108]

A diferencia del corrimiento químico, que es inducido por el campo aplicado (y por lo tanto proporcional a este), el acoplamiento espín-espín es característico de la molécula misma. La magnitud de la interacción entre los núcleos K y L está dada por una constante de acoplamiento espín-espín J_{KL} (*SSCC*, por sus siglas en inglés), siempre expresado en unidades de frecuencia (hertz). Esta es una unidad de magnitud conveniente, que es directamente proporcional a la energía. Matemáticamente, el hecho de que el acoplamiento depende de la orientación relativa de los espines de los núcleos K y L se puede expresar mediante el uso del producto escalar, $J_{KL}\mathbf{I}_K \cdot \mathbf{I}_L$. Como resultado, este acoplamiento indirecto a menudo se llama *acoplamiento escalar*. Este término es preciso al describir la interacción de espín, pero a veces se interpreta

erróneamente para sugerir que \mathbf{J}_{KL} es una cantidad escalar. No lo es. \mathbf{J} es en realidad un tensor de segundo rango, al igual que el tensor de apantallamiento magnético, $\boldsymbol{\sigma}$. Del mismo modo que con este último, cuando las moléculas se mueven rápidamente, sólo se observa el promedio; por lo tanto, en líquidos y gases es correcto tratar a \mathbf{J} como una simple cantidad escalar o “constante”.

El acoplamiento entre espines nucleares puede ocurrir cuando dos núcleos están unidos entre sí a través de uno o más enlaces. En general, la información de acoplamiento de espín es transportada por electrones a través de enlaces químicos. Teniendo en cuenta los mecanismos de polarización es esperable que la magnitud del acoplamiento disminuya en la medida en que aumenta el número de enlaces intermedios. Sin embargo esto puede no ocurrir debido a la existencia de otros factores importantes.

2.3.1. Teoría de Ramsey

La energía (E) del acoplamiento indirecto entre espines nucleares se define como la parte de la energía total del sistema que se expresa como producto escalar de los vectores de espín nuclear (\mathbf{I}) (h es la constante de Plank):

$$E = \sum_{K>L} hJ_{KL}\mathbf{I}_K\mathbf{I}_L \quad (2.23)$$

La cantidad J_{KL} tiene dimensión de frecuencia y es la SSCC entre el núcleo K y L . Generalmente, el valor SSCC depende tanto de la estructura electrónica del sistema como del arreglo espacial de los núcleos, además de la característica de los núcleos acoplados. Por lo tanto, la SSCC a menudo se escribe en la forma

$$\mathbf{J}_{KL} = h \frac{\gamma_K}{2\pi} \frac{\gamma_L}{2\pi} \mathbf{K}_{KL} \quad (2.24)$$

donde γ_K y γ_L son las razones giromagnéticas de los núcleos correspondientes, y \mathbf{K}_{KL} se conoce como *SSCC reducido*, el cual es independiente del tipo específico y composición isotrópica de los núcleos acoplados. La energía del acoplamiento entre espines nucleares es muy pequeña comparada con la energía electrónica total de la

molécula.^[109] Por lo tanto, la energía de interacción de momentos magnéticos nucleares se considera como una perturbación del sistema electrónico. En presencia de esta perturbación, la energía del sistema puede escribirse como una expansión en series de Taylor en potencias de perturbación, en este caso, en potencias de momentos magnéticos nucleares ($\boldsymbol{\mu}$):

$$E = E_0 + \sum_K \left. \frac{\partial E}{\partial \boldsymbol{\mu}_K} \right|_{\boldsymbol{\mu}_K=0} \boldsymbol{\mu}_K + \frac{1}{2} \sum_{K,L} \left. \frac{\partial^2 E}{\partial \boldsymbol{\mu}_K \partial \boldsymbol{\mu}_L} \right|_{\boldsymbol{\mu}_K, \boldsymbol{\mu}_L=0} \boldsymbol{\mu}_K \boldsymbol{\mu}_L + \dots \quad (2.25)$$

Los momentos magnéticos nucleares están relacionados con los espines nucleares como:

$$\boldsymbol{\mu}_N = \gamma_N \hbar \mathbf{I}_N \quad (2.26)$$

Las que contienen las primeras potencias de los momentos magnéticos en la fórmula 2.25 se asignan a las llamadas propiedades de primer orden, las de las segundas potencias de los momentos magnéticos se asignan a las propiedades de segundo orden, etc. Comparando el tercer término en la expansión 2.25 con la expresión 2.23, y tomando en cuenta las fórmulas 2.24 y 2.26, se puede concluir que la expresión para la SSCC reducida es la segunda derivada de la energía con respecto a los momentos magnéticos de los núcleos interactuantes y, por tanto, es una propiedad de segundo orden:

$$\mathbf{K}_{KL} = \left. \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{\mu})}{\partial \boldsymbol{\mu}_K \partial \boldsymbol{\mu}_L} \right|_{\boldsymbol{\mu}=0} \quad (2.27)$$

2.3.2. Mecanismos electrónicos de acoplamiento núcleo-electrón

De acuerdo con la teoría de perturbaciones de Rayleigh-Schrödinger, la segunda corrección a la energía del sistema bajo perturbación mixta puede ser presentado por la expresión 2.28:^[109]

$$\frac{d^2 E(x)}{dx_i dx_j} = \langle \Psi_0 | \frac{d^2 \hat{H}}{dx_i dx_j} | \Psi_0 \rangle - 2 \sum_{n \neq 0} \frac{\langle \Psi_0 | d\hat{H}/dx_i | \Psi_0 \rangle \langle \Psi_n | d\hat{H}/dx_j | \Psi_n \rangle}{E_n - E_0} \quad (2.28)$$

El primer término en la expresión 2.28 es la media de la segunda derivada mixta del Hamiltoniano con respecto al estado fundamental del sistema, mientras que el segundo término es la suma sobre estados para cada estado excitado del sistema, Ψ_n , con una energía E_n . Basado en la expresión 2.28 y en correspondencia con la teoría no relativista de Ramsey^[110], la SSCC reducida para los núcleos K y L puede ser escrita como

$$\begin{aligned} \mathbf{K}_{KL} = & \langle 0 | \mathbf{h}_{KL}^{DSO} | 0 \rangle - 2 \sum_{n_S \neq 0} \frac{\langle 0 | \mathbf{h}_K^{PSO} | n_S \rangle \langle n_S | (\mathbf{h}_L^{PSO})^T | 0 \rangle}{E_{n_S} - E_0} - \\ & - 2 \sum_{n_T} \frac{\langle 0 | \mathbf{h}_K^{SD} + \mathbf{h}_K^{FC} | n_T \rangle \langle n_T | (\mathbf{h}_L^{SD})^T + (\mathbf{h}_L^{FC})^T | 0 \rangle}{E_{n_T} - E_0} \end{aligned} \quad (2.29)$$

donde \mathbf{h} son operadores de perturbación de partícula simple. La sumatoria en el segundo término de la expresión 2.29 es sobre estados excitados singulete, mientras la suma en el tercer término es sobre estados excitados triplete. Los cuatro términos de la SSCC de la ecuación 2.29 son: contribución espín-órbita diamagnético (DSO, *diamagnetic spin-orbit*), correspondiente al primer término de la expresión; contribución espín-órbita paramagnético (PSO, *paramagnetic spin-orbit*), correspondiente al segundo término; del mismo modo que la contribución espín-dipolar (SD, *spin-dipolar*) y la contribución relacionada a la interacción por contacto de Fermi (FC, *Fermi contact*), los que se expresan en el tercer término. La forma de estos operadores se establece mediante las expresiones 2.30-2.33.

$$\mathbf{h}_{KL}^{DSO} = \frac{\alpha^4}{2} \sum_i \frac{(\mathbf{r}_{iK} \mathbf{r}_{iL}) \mathbf{I} - \mathbf{r}_{iK} \mathbf{r}_{iL}^T}{r_{iK}^3, r_{iL}^3} \quad (2.30)$$

$$\mathbf{h}_K^{PSO} = \alpha^2 \sum_i \frac{\mathbf{l}_{iK}}{r_{iK}^3} \quad (2.31)$$

$$\mathbf{h}_K^{SD} = \alpha^2 \sum_i \frac{3(\mathbf{s}_i \mathbf{r}_{iK}) \mathbf{r}_{iK} - \mathbf{r}_{iK}^2 \mathbf{s}_i}{r_{iK}^5} \quad (2.32)$$

$$\mathbf{h}_K^{FC} = \frac{8\pi\alpha^2}{3} \sum_i \delta(\mathbf{r}_{iK}) \mathbf{s}_i \quad (2.33)$$

Aquí, \mathbf{r}_{iK} es el radio vectorial del electrón i ésimo con respecto al núcleo K ésimo; α es la constante de estructura fina; \mathbf{s}_i y \mathbf{l}_i son, respectivamente, los operadores de espín y momento angular orbital.

El acoplamiento espín-órbita, que incluye tanto al diamagnético como al paramagnético, surge a partir del efecto de los momentos magnéticos nucleares de un núcleo K sobre los momentos angulares orbitales de los electrones moleculares, como resultado de lo cual surgen corrientes de electrones inducidas. Este último, a su vez, genera un campo magnético en el punto donde se encuentra el segundo núcleo L . Por lo tanto, el acoplamiento espín-órbita entre los momentos magnéticos nucleares se propaga a través de los momentos angulares orbitales de los electrones. El acoplamiento SD ocurre entre el momento magnético del núcleo y los momentos magnéticos de espín de los electrones; este proceso causa polarización electrón-espín de la capa electrónica molecular. A su vez, el momento de espín magnético inducido por el primer núcleo interactúa con el momento magnético del segundo núcleo. La interacción de contacto de Fermi ocurre directamente entre el momento magnético de espín del electrón y el momento magnético nuclear, si la probabilidad de encontrar al electrón en la superficie del núcleo es distinta de cero. Como en el caso del acoplamiento espín-dipolar, el momento de espín magnético inducido (que surge debido a la interacción de contacto de Fermi) se transfiere a través de electrones de enlace al segundo núcleo. Vale la pena mencionar que la interacción de contacto de Fermi generalmente domina en el valor total de la SSCC, especialmente para los núcleos separados por un enlace químico. Sin embargo, hay excepciones.

2.4. Interacciones no covalentes

La intensidad de los enlaces químicos puede ser muy variable. Existen “enlaces fuertes”, como los enlaces covalentes o iónicos, y los “enlaces débiles”, como las interacciones dipolo-dipolo, la fuerza de dispersión de London, los enlaces de hidrógeno y las interacciones de apilamiento π . Sin embargo, no existe una distinción clara entre los enlaces “fuertes” y los “débiles”. Por ejemplo, la fortaleza de algunos enlaces de hidrógeno, particularmente en el anión bifluoruro (FHF^-), está muy cerca de los enlaces covalentes^[111].

Se ha descrito una gran variedad de interacciones intra e intermoleculares no covalentes que son generalmente débilmente estabilizantes. Éstas son de enorme importancia en bioquímica y en la organización de cristales moleculares^[112]. En general, las interacciones intermoleculares están mediadas por fuerzas de interacción más pequeñas que las encontradas en los enlaces “fuertes” y generalmente se rigen por la atracción electrostática, como las interacciones dipolo-dipolo o interacciones catión- π (interacción monopolo-cuadrupolo).

2.4.1. Enlaces de hidrógeno

Una de las principales formas de interacciones no covalentes es la del enlace de hidrógeno (EH). Tiene la forma $A-H \cdots B$ entre moléculas o entre partes adecuadas de la misma molécula^[113]. Es la más documentada de las interacciones débiles. La importancia del EH es enorme. Desempeña un papel clave por ejemplo en la determinación de las formas, propiedades y funciones de biomoléculas^[114-117]. El EH intermolecular es crucial para codificar información genética (como ocurre en los pares de bases de ADN) e interacciones de biomoléculas; mientras que el EH intramolecular es fundamental para la formación de estructuras tridimensionales biológicamente relevantes de biomacromoléculas. Recientemente se encontraron muchas aplicaciones de los EH en ingeniería de cristales^[118] y diseño de materiales.

El comportamiento estructural de los sistemas bioquímicos y la naturaleza de

los líquidos con enlaces de hidrógeno se pueden entender mejor cuando se adopta el concepto de enlaces de hidrógeno individuales y es posible su detección y cuantificación. La energía de las interacciones intermoleculares se mide simplemente como una diferencia entre las energías de una estructura unida por EH y sus componentes. Este enfoque no se puede utilizar para estudiar las interacciones intramoleculares y, a pesar del hecho de que los enlaces de hidrógeno se comprenden bien cualitativamente,^[113,119–122] se admite generalmente que se necesita tanto de la aplicación de un método de cálculo como de datos cuantitativos.^[123]

La caracterización detallada de los EH fue objeto de numerosos estudios experimentales y teóricos. A pesar de su papel crucial en la estabilización de las estructuras biomoleculares y su participación casi ubicua en las reacciones biomoleculares, la comprensión detallada de los enlaces de hidrógeno en términos de energías, preferencias geométricas y dinámica es aún bastante limitada^[124]. Existen severas dificultades en la determinación de la posición del átomo de hidrógeno por difracción de rayos X, que es el método experimental más ampliamente utilizado para la determinación estructural^[125]. Por otra parte los experimentos de difracción de neutrones son un desafío experimental (requieren cristales grandes y pocos laboratorios tienen acceso al equipamiento).^[126]

La espectroscopía de RMN es una de las herramientas más poderosas para estudiar la fortaleza de los EH. Es uno de los métodos principales que se emplean para investigar estas interacciones tanto en solución como en estado sólido^[127]. La existencia del enlace de hidrógeno se deduce de varias técnicas y parámetros de la RMN, como los corrimientos químicos^[128–134], la dependencia de la temperatura de los corrimientos químicos^[134], la accesibilidad del disolvente^[135], el fenómeno NOE^[136,137], acoplamiento escalar entre espines de núcleos en ambos lados de los EH^[138], efectos de isótopos^[139] y acoplamiento dipolar de RMN en el estado sólido^[140]. También se obtiene información útil comparando los parámetros experimentales de RMN con las predicciones teóricas^[141,142]. Los avances en los métodos químico-cuánticos para calcular los corrimientos químicos^[143–145] permitieron un número creciente de estudios

que se centran en la asignación o reasignación de señales de protones y carbonos, incluidos los efectos del EH^[146,147], en la elucidación de las estructuras químicas^[145] y en el refinamiento de las posiciones de hidrógenos lábiles^[148,149]. Tales cálculos también han jugado un papel importante en el nuevo campo de la cristalografía de RMN donde la espectroscopía de RMN se combina con la difracción de rayos X para ayudar a la obtención confiable de información estructural^[150].

Los corrimientos químicos de protones son extremadamente sensibles a los EH. Uno de los indicadores ampliamente utilizados de la formación de enlaces de hidrógeno es un pronunciado desplazamiento hacia campos bajos de la señal de RMN del hidrógeno del puente^[151]. En casi todos los casos, la formación de un EH hace que el protón unido se desapantalle, a menudo en 10 ppm o más. Se encontró una correlación logarítmica entre la distancia O–H···O observada en los cristales y el corrimiento químico del protón^[152]. También se demostró una correlación entre las fuerzas de los enlaces de hidrógeno y las magnitudes de la variación en el corrimiento químico en la formación de interacciones intermoleculares en un cristal^[153]. Se observaron corrimientos de protones de hasta 23 ppm para los átomos de hidrógeno involucrados en EH fuertes^[147]. En general, existe una correlación aproximada entre el corrimiento RMN y la fortaleza del enlace medida por la entalpía de su formación.

El corrimiento hacia altas frecuencias en los EH resulta de una disminución en el apantallamiento alrededor del núcleo de hidrógeno, como lo demuestran los cálculos de densidad electrónica que se encuentra reducida cerca del hidrógeno. Esta redistribución de electrones en el enlace A–H es probablemente provocada por repulsión de los electrones no enlazantes en B.

El gran desapantallamiento de los protones pertenecientes a un EH es un factor importante en la interpretación de los espectros de ¹H, ya que a menudo se encuentran corrimientos químicos de OH y NH dependientes del solvente. Además, el corrimiento químico de OH o NH puede ser de valor diagnóstico en las elucidaciones estructurales cuando están presentes EH intramoleculares. En el sistema A–H···B, los corrimientos de A y B (por ejemplo ¹⁷O y ¹⁵N) también cambian luego de la formación de un EH.

A su vez se encontró que los corrimientos de los núcleos ^{15}N y ^{17}O son muy sensibles al EH^[154]. Por ejemplo, el corrimiento del ^{17}O de un grupo carbonilo involucrado en el EH puede ser 50-60 ppm menor que el de un carbonilo libre^[155], y el enlace $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ en las proteínas causa el desapantallamiento de ^{15}N en aproximadamente 13 ppm^[156]. De manera similar, los corrimientos de ^{13}C en las proximidades de los EH reflejan los cambios en la distribución electrónica debido a éstos. Sin embargo, representan sólo una fracción relativamente pequeña del rango total del corrimiento químico para estos núcleos, en contraste con la situación del ^1H , donde el efecto del EH puede ser el factor dominante en el valor del corrimiento químico.

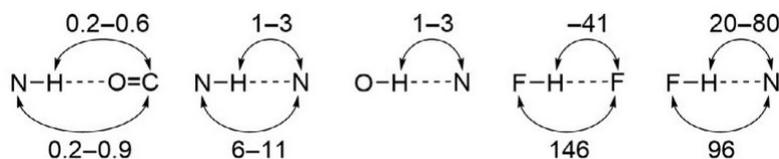


Figura 2.1: Valores típicos de acoplamientos escalares a través de enlaces de hidrógeno (tomado de Ref. 124)

El EH influye en la constante de acoplamiento entre el donante y el átomo de hidrógeno. Está bien documentado que un EH fuerte da como resultado una disminución de la constante de acoplamiento $^1J_{\text{N}-\text{H}}$ a través del enlace covalente N-H correspondiente^[157]. Se dispone de evidencia más directa de la formación de un EH mediante la detección de acoplamientos escalares a través de enlaces de hidrógeno (hJ), lo que permite la identificación de grupos donantes y aceptores^[158]. Desde su primera observación^[159,160], las interacciones indirectas mediadas por electrones entre espines nucleares a través de EH en biomoléculas se han convertido en una herramienta importante para la caracterización estructural de macromoléculas biológicas^[161]. Los valores típicos de los acoplamientos escalares intermoleculares observados comúnmente se muestran en la Figura 2.1.

2.4.2. Apilamiento π (π -Stacking)

Las interacciones no covalentes inter e intramoleculares que involucran anillos aromáticos son omnipresentes en los procesos químicos y biológicos. Abarcan desde el reconocimiento molecular hasta el autoensamblaje, la catálisis y el transporte.^[162]

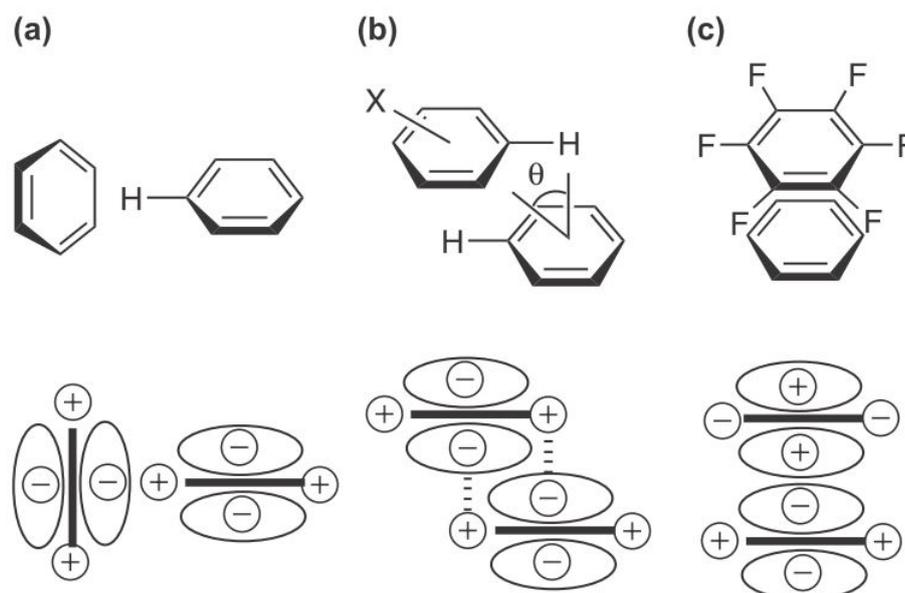


Figura 2.2: Geometrías de interacciones aromáticas. (a) T-shaped edge-face; (b) offset stacked; (c) eclipsed face-to-face. (Tomado de Ref. 163)

Se considera que las interacciones aromáticas consisten en fuerzas de van der Waals, hidrofóbicas y electrostáticas.^[164,165] La contribución relativa y la magnitud de cada uno de estos componentes aún está en estudio. Surgen complicaciones por el hecho de que los grupos aromáticos interactúan con una disposición específica, dependiendo de la naturaleza de los anillos involucrados. No obstante, las interacciones aromáticas son elementos de reconocimiento molecular intrigantes porque se espera que sean fuertes en agua debido al componente hidrofóbico de la interacción, pero al mismo tiempo, la interacción debe ser selectiva si el componente electrostático es significativo, proporcionando así las mejores características tanto de interacciones

hidrofóbicas como de enlaces de hidrógeno.

Se propusieron varias geometrías con el fin de describir estas interacciones sobre la base del componente electrostático de la interacción (Figura 2.2).^[164] El componente electrostático surge de las interacciones de los momentos cuadrupolares de los anillos aromáticos. Aunque el benceno posee dipolo no nulo, tiene una distribución desigual de carga, con una mayor densidad de electrones en la cara del anillo y una densidad de electrones reducida en el borde, lo que da lugar a su momento cuadrupolar. La geometría *borde-cara* (en forma de T) o *T-shaped edge-face* (Figura 2.2 a), que se puede considerar consiste de una interacción $CH - \pi$, se encuentra en el benceno en estado sólido y se observa comúnmente entre los residuos aromáticos en las proteínas. La orientación *compensada* o *paralela-desplazada* (u *offset stacked*, Figura 2.2 b) también se encuentra comúnmente en las proteínas y es la geometría típica del apilamiento o stacking de bases en el ADN. Para esta geometría, entra en contacto más área de superficie y se incrementan las interacciones de van der Waals e hidrofóbicas. Esta orientación parece ser más común cuando se reduce la densidad de electrones en la cara de uno o ambos anillos. Una tercera geometría posible es la orientación *eclipsada cara-cara* o *eclipsed face-to-face* (Figura 2.2 c). Esto se observa comúnmente en los pares con características de donantes-aceptores y los compuestos que tienen momentos cuadrupolares opuestos, de manera que la interacción entre las caras de los anillos es atractiva. La interacción benceno-perfluorobenceno es un excelente ejemplo de este tipo de interacción aromática, y se ha calculado que proporciona -15.5 KJ/mol en estabilidad.^[166] Estas tres geometrías se modelaron con niveles de teoría muy precisos en el dímero del benceno y se encontró que son atractivas por naturaleza, con una preferencia por las geometrías desplazadas en paralelo y en forma de T. Este último aspecto se apoya además en cálculos a nivel de cluster acoplado, los que muestran que las geometrías más estables del dímero de benceno son las desplazadas en paralelo y en forma de T, con energías de interacción al nivel CCSD(T) de -2.48 kcal/mol y -2.46 kcal/mol, respectivamente, mientras que el complejo cara-cara es menos estable (-1.48 kcal/mol), pero todavía sigue siendo un mínimo en la hipersuperficie de

energía.^[167]

La principal contribución a la energía de interacción proviene de la dispersión,^[168] lo que indica que se deben incluir correcciones de correlación de electrones en el cálculo de las interacciones areno-areno. Los esfuerzos realizados para superar la incapacidad de los métodos de la teoría funcional de la densidad (DFT) para explicar la dispersión fueron discutidos por Grimme et al.^[169] Según Grimme,^[11] las interacciones de apilamiento $\pi - \pi$ son un tipo particular de efecto de correlación (dispersión) de electrones que actúa en grandes sistemas no saturados cuando están muy cerca unos de otros. Para sistemas con un número de átomos de carbono ≤ 10 hay poca evidencia teórica de que los orbitales tipo π jueguen un papel especial. Por lo tanto, el término “apilamiento $\pi - \pi$ ” debe verse como un descriptor geométrico conveniente para el modo de interacción en moléculas no saturadas.

Las interacciones entre los anillos aromáticos y heteroaromáticos son importantes contribuyentes a la estructura de las proteínas y la complejación proteína-ligando.^[170] Son además determinantes en las estructuras de ácidos nucleicos, como se desprende del apilamiento de pares de bases en el ADN.^[171] Pero las interacciones aromáticas $\pi - \pi$ no sólo determinan las estructuras biológicas sino que también modulan las propiedades físicas; por ejemplo, la de los residuos en los sitios activos de enzimas.^[172]

La imagen que surge es que las interacciones aromáticas no son tan diferentes de las interacciones simples como lo son los EH. Sin embargo, su estudio se torna más complejo por el hecho de que están involucrados grupos funcionales más grandes. La principal diferencia es que el área de superficie del contacto intermolecular es grande, por lo que las interacciones son mucho más importantes. Aunque los principios electrostáticos que gobiernan las magnitudes de los EH también se aplican a las interacciones aromáticas, hay muchos más puntos de contacto donde se deben considerar las interacciones electrostáticas, por lo que es difícil racionalizar el comportamiento de las interacciones aromáticas con reglas sencillas como ocurre en el caso de enlaces de hidrógeno.^[165]

2.5. Efectos del solvente

Los cambios químicos producidos por la presencia del solvente son bien conocidos. El efecto del solvente es causado por las interacciones de las moléculas del solvente con el soluto, por ejemplo, a través de enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals u otras interacciones débiles.^[173,174]

Claramente, las moléculas de solvente pueden afectar las posiciones de un núcleo de soluto dentro de un espectro RMN (y viceversa) a través de los mismos tipos de mecanismos como los involucrados en los efectos intra e intermoleculares ya discutidos. Es importante tener presente, en primer lugar, que cuando se usa un estándar de referencia como el TMS, los efectos de solvente medidos, de hecho, representan la diferencia de tales efectos sobre el soluto y sobre el compuesto utilizado como referencia. Solamente las moléculas de solvente cercanas al soluto o a la referencia, producirán contribuciones importantes. Los efectos del solvente (los que en algunas situaciones se refieren a efectos del medio) pueden ser considerados según tres categorías:

a) **Efecto del solvente polar.** Este es un efecto de campo eléctrico. Un soluto polar, como el acetonitrilo, pondrá en marcha un campo de reacción en un solvente polar. Esto ocurrirá incluso para moléculas de soluto sin momento dipolar neto si contienen grupos polares. El campo de reacción provoca entonces el desplazamiento de electrones en el soluto; para solutos polares esto ocurre de manera que se refuerza el apantallamiento o el efecto inductivo de desapantallamiento asociado con el dipolo eléctrico original. Así, los solventes polares tienden a aumentar el efecto inductivo de sustituyentes electronegativos en solutos. En general, están en el extremo positivo de dipolos moleculares o de enlace, y la acción es la de desapantallamiento para protones del soluto, como en el caso del acetonitrilo. Una molécula isotrópica, tal como es usualmente seleccionada para un compuesto de referencia (por ejemplo TMS) no será afectada, excepto por el término de van der Waals.

b) **Anisotropía magnética del solvente.** Las moléculas que poseen una susceptibilidad magnética pronunciadamente anisotrópica, causarán cambios en los corri-

mientos químicos cuando actúen como solventes. Por ejemplo, el benceno, debido al efecto de corriente de anillo, causa apantallamiento o desapantallamiento a distancia. Por supuesto, para solutos insertos en una solución de benceno, el efecto se promedia sobre todas las posibles orientaciones moleculares soluto-solvente; pero debido a la forma de disco del benceno hay aún un efecto neto, incluso para moléculas simétricamente esféricas tales como TMS. El efecto no variará con la posición (dentro de la molécula de soluto) del núcleo cuyo apantallamiento es considerado. Pero la magnitud del corrimiento químico diferirá para distintos solutos simétricos. Por lo tanto se observarán cambios diferenciales cuando se emplee TMS como referencia, pero tales efectos son probablemente pequeños. Sin embargo, la mayoría de los solutos no son simétricamente esféricos, y consecuentemente ocurrirán además cambios diferenciales más marcados en los corrimientos químicos. En este caso, además, los protones químicamente distintos en la misma molécula estarán afectados de diferentes modos. Se debe advertir que esto puede implicar que haya cierta orientación preferencial entre soluto y solvente, pero no implica necesariamente ninguna atracción positiva entre las moléculas (pueden haber simplemente repulsiones estéricas). Frecuentemente es posible hacer uso de tales efectos de solvente para separar las señales superpuestas en un espectro RMN y facilitar su análisis. Para este propósito, los mejores solventes probablemente son benceno (que en general causa corrimientos químicos de baja frecuencia, relativos a TMS, debido a protones del soluto que se ubican por encima o por debajo del plano del benceno), o acetona (causando generalmente corrimientos de alta frecuencia debido a protones de soluto que se encuentran en el plano del esqueleto del átomo pesado de la acetona).

c) **Interacciones específicas.** La interacción química entre soluto y solvente, o entre dos diferentes solutos en la misma solución, causarán claramente cambios en el corrimiento químico. Las especies unidas intermolecularmente por enlaces de hidrógeno proveen ejemplos de tal efecto. Se invoca con frecuencia la información que provee la RMN para mostrar que la interacción química ocurre. Cualquier tipo de formación de un complejo débil puede ser estudiado por RMN. De hecho, no

hay distinción clara entre “formación de un complejo” por un lado y “orientación preferida” por el otro. Las mediciones de una “energía de asociación” se vuelven difíciles de interpretar cuando estas son pequeñas (menores que 20 KJ/mol) y las sugerencias de una geometría para el complejo son poco fiables cuando es probable obtener un amplio rango de conformaciones con energías similares. En muchos casos se puede hablar en términos de un complejo, y se hace posible obtener corrimientos químicos de tales complejos inclusive cuando estos no se pueden aislar.

2.5.1. Modelos para la inclusión de solvente

Los efectos de solvatación generalmente se tienen en cuenta en los cálculos utilizando las siguientes tres técnicas mejor comprobadas: a) modelo continuo del medio, b) modelo de supermolécula y c) modelo mixto. El *modelo continuo* (solvente implícito) implica la consideración químico-cuántica de una sola molécula o fragmento molecular rodeado por un medio dieléctrico homogéneo y continuo. En la mayoría de los casos, los efectos del solvente en los cálculos de RMN se toman en cuenta utilizando el esquema del Modelo del Continuo Polarizable del Formalismo de la Ecuación Integral de Tomasi (IEF-PCM) que a menudo se denomina simplemente PCM.^[175–177] La idea del modelo PCM es bastante simple: el efecto del solvente se simula como una dispersión de distribución de carga aparente en la superficie de la cavidad (en la que se halla el soluto o molécula de interés) sin tener en cuenta las interacciones soluto-solvente a distancias cortas (los llamados efectos no electrostáticos), de modo que todos los efectos del solvente calculados dentro del esquema PCM no tienen en cuenta ningún efecto de solvatación específico. Este modelo funciona bastante bien cuando no existan interacciones intermoleculares específicas de soluto-solvente. En el *método de las supermoléculas* (modelo del solvente explícito), que es más intensivo en recursos computacionales, se calculan de forma explícita complejos intermoleculares compuestos por la molécula considerada y varias moléculas de disolvente que interactúan con él. En algunos casos también es posible realizar una *combinación de ambos métodos de inclusión de los efectos del solvente*. Aquí el sistema soluto-solvente

explícito (supermolécula), es decir la molécula de interés junto con las moléculas de solvente explícito, se hallan en la cavidad formada por el modelo de solvente implícito. De esta manera se tienen en cuenta las interacciones moleculares entre soluto y solvente, a la vez que se aprovechan las ventajas computacionales que tiene el modelo de solvente continuo.^[178-180]

Parte II

Propiedades magnéticas en fragmentos moleculares

Capítulo 3

Propiedades magnéticas en bases nitrogenadas del ADN

El propagador de polarización al segundo orden de aproximación es uno de los métodos más precisos que se encuentran disponibles para el cálculo de propiedades magnéticas moleculares, siempre y cuando se empleen bases de funciones de gran tamaño.^[54–56,181]

Por otro lado, otra cuestión a ser tenida en cuenta es la inclusión de la correlación electrónica, especialmente para el cálculo de tensores de apantallamiento con gran precisión en moléculas con múltiples enlaces.^[182] Este aspecto también tiene importancia en el caso de apantallamientos y acoplamientos J para los carbonos involucrados en enlaces múltiples, especialmente cuando están enlazados a átomos de nitrógeno y oxígeno.^[109,183,184] Para los sistemas estudiados en esta tesis, el número de átomos que pertenece a cada base nitrogenada es más grande que el número máximo que se puede considerar para la realización de cálculos precisos a nivel SOPPA, aunque factibles comparados con otros métodos o niveles de teoría de referencia, como por ejemplo el de clústeres acoplados (*coupled-cluster*, CC). Se sabe que los cálculos a nivel SOPPA son menos costosos que a nivel CC, lo que convierte al método SOPPA en una alternativa válida para la evaluación de propiedades magnéticas de sistemas con un número no despreciable de átomos.^[181,185,186]

No obstante, el esfuerzo computacional requerido para llevar a cabo cálculos de tal magnitud es enorme, y por lo tanto en ocasiones se tornan irrealizables. Teniendo en cuenta dicha restricción, se debe encontrar el número de átomos que pueden ser tratados, y por lo tanto el número de funciones de la base de funciones que pueden ser utilizadas. Es por ello que se requiere la exploración de metodologías alternativas que hagan factible la obtención de resultados de cálculos precisos de propiedades moleculares en sistemas de tamaño creciente y con requerimiento computacional aceptable.

En este capítulo se exploran diferentes metodologías y niveles de teoría aplicados al cálculo de propiedades magnéticas en bases nitrogenadas del ADN. En particular, los estudios se centraron en la timina y la adenina. Se intenta validar los resultados obtenidos mediante el uso de teoría del funcional de la densidad, DFT, comparándolos con aquellos obtenidos mediante propagadores de polarización al segundo orden de aproximación, SOPPA, sobre la timina. Se evalúan además las regiones que deben ser analizadas a un mejor nivel teórico y que deben ser tratadas con un esquema de bases localmente densas. Además, a modo de segunda instancia de validación, se comparan los resultados obtenidos con los valores experimentales que figuran en la bibliografía.

3.1. Niveles de teoría y detalles computacionales

En los últimos años la DFT ha logrado gran popularidad y un crecimiento exponencial en su uso, debido principalmente a sus excelentes resultados en lo que se refiere al balance entre precisión y bajo costo computacional. Sin embargo su precisión está íntimamente ligada a la correcta elección del funcional, y las propiedades magnéticas no escapan a tal condición. Es por ello que se han hecho pruebas a nivel DFT, con el entendimiento de que la elección del funcional de correlación e intercambio es crítica para los cálculos de apantallamientos magnéticos en sistemas que poseen enlaces de hidrógeno, aún cuando esta situación no se presenta en todos los casos.^[187]

Teniendo en cuenta además que este es sólo un primer paso hacia la exploración de sistemas de gran tamaño, se buscaron alternativas adicionales para reducir

aún más los costos computacionales. En este sentido se optó por aplicar un esquema LDBS.^[67–69] Mediante la aplicación de este esquema se pueden describir las propiedades magnéticas de diferentes regiones dentro de una molécula con diferentes precisiones, mediante la elección adecuada de las regiones y el tamaño de la base empleada en cada una. Es así que se pueden obtener resultados precisos y comparables a los casos en que se utiliza el mismo conjunto para todos los átomos del sistema, con la ventaja de hacerlo introduciendo una reducción importante en el costo computacional asociado.

Este estudio particular se inició con la evaluación del desempeño de la combinación de diferentes funcionales de la DFT y de bases de funciones, aplicadas a la determinación de apantallamientos y acoplamientos indirectos J en la base nitrogenada timina de forma aislada. La aproximación SOPPA se aplicó solamente al cálculo del apantallamiento de los átomos de nitrógeno (N_3) e hidrógeno (H_3) que se encuentran afectados a la formación del enlace de hidrógeno entre adenina y timina cuando forman un par (ver Figura 3.1a). Los cálculos se llevaron a cabo empleando bases de funciones gaussianas^[188,189] y de Dunning^[190–193].

En todos los cálculos a nivel SOPPA se aplicó el esquema que consiste en ubicar el origen de Gauge en cada uno de los átomos de interés. Para los cálculos DFT se emplearon tanto orbitales London como orbitales GIAO (*gauge-including atomic orbitals*), de manera de garantizar la independencia de los resultados respecto del origen del gauge.^[194–196]

En lo concerniente a los conjuntos de base seleccionados, se utilizaron bases de Pople (6-31G^[188], 6-311G(2df,2pd)^[189]) y bases consistentes con la correlación de Dunning y colaboradores: cc-pVXZ ($X = T, Q$)^[190,191], sus variantes aumentadas: aug-cc-pVXZ ($X = T, Q$)^[192] y sus bases mejoradas a través de la inclusión del core: cc-pCVXZ y aug-cc-pCVXZ ($X = T, Q$).^[193]

Las geometrías de las bases nitrogenadas fueron optimizadas sin restricciones a nivel DFT/B3LYP/cc-pVTZ, corroborando la correspondencia con un mínimo en la superficie de energía potencial a través de la ausencia de frecuencias vibracionales

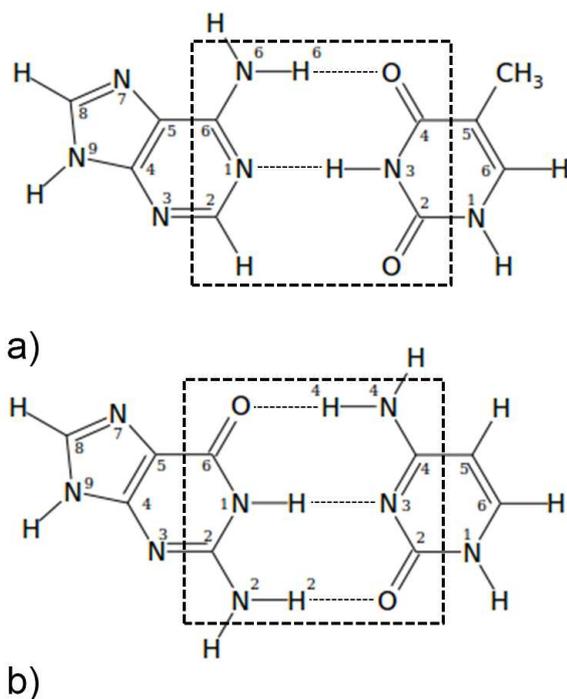


Figura 3.1: Pares de bases de ADN a) Adenina-Timina (AT) y b) Guanina-Citosina (GC).

negativas. Los cálculos tanto de las optimizaciones geométricas como de las propiedades magnéticas se llevaron a cabo mediante el código DALTON en sus versiones 2013, 2015 y 2016.^[197]

3.2. Parámetros espectroscópicos de la RMN en timina

En esta sección se comparan valores de parámetros espectroscópicos obtenidos a nivel DFT y a nivel SOPPA, con el objeto de decidir qué funcional produce los resultados más confiables en combinación con una base dada.

Se sabe de la gran dependencia que existe entre la calidad de la base de funciones escogida y los cálculos a nivel SOPPA.^[198] Sin embargo, los resultados obtenidos

indican que esta relación cobra mayor relevancia en los sistemas que aquí se estudian. En la Tabla 3.1 puede observarse que los valores de apantallamientos de N_3 y H_3 en la timina (ver Fig. 3.1) se tornan cada vez más pequeños, conforme aumenta el tamaño de la base empleada. En el caso particular de $\sigma(N_3)$, los cálculos con las bases cc-pVTZ y aug-cc-pCVTZ exhiben resultados cuya diferencia se ubica en alrededor de 40 ppm. Un comportamiento similar se encuentra para $\sigma(H_3)$, en cuyo caso la variación es cercana al 60 %.

Tabla 3.1: Apantallamientos magnéticos de N_3 y H_3 en timina, calculados a nivel SOPPA empleando diferentes bases de funciones gaussianas. Todos los valores están expresados en partes por millón (ppm).

	cc-pVTZ	aug-cc-pVTZ	cc-pVQZ	cc-pCVTZ	aug-cc-pCVTZ
σ_{N_3}	138.69	128.66	106.16	104.77	96.28
σ_{H_3}	60.02	52.14	33.91	30.52	23.13

Otro aspecto a ser tenido en cuenta y que también se desprende de la Tabla 3.1 es que se necesita describir al core del átomo con una precisión superior a lo habitual en este monómero. Cuando los átomos diferentes al hidrógeno se hallan descriptos utilizando la base cc-pVTZ o la base cc-pCVTZ, el valor de $\sigma(N_3)$ varía en 34 ppm. Este comportamiento se asemeja al obtenido cuando se emplean bases aumentadas.

En la Figura 3.2 se puede ver la interdependencia que existe entre los comportamientos de N_3 y H_3 en cuanto a sus valores de apantallamiento, evaluados a nivel SOPPA.

Las siguientes funcionales DFT fueron seleccionadas para comparar sus resultados con los obtenidos al nivel SOPPA: B3LYP^[49,50], BHANDHLYP^[51], KT2^[52] y KT3^[53]. Nuevamente aquí se deben poner en la balanza dos factores fundamentales: la precisión y la factibilidad.

Se analizó en primer término el desempeño de las funcionales arriba mencionadas

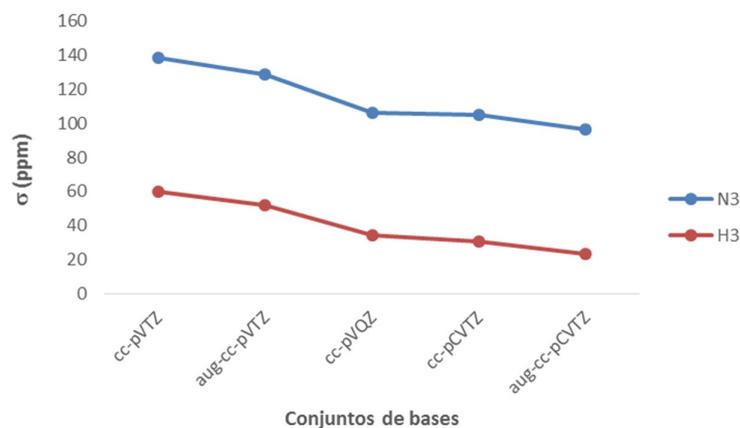


Figura 3.2: Influencia del conjunto de base sobre apantallamientos de N_3 y H_3 de timina, calculados a nivel SOPPA.

combinadas con diferentes bases de funciones en timina. En estos cálculos se aplicó el mismo tipo de base para todos los átomos que conforman la molécula. Los resultados se dan en la Tabla 3.2.

Las principales diferencias en los valores de los apantallamientos se hacen más evidentes para aquellos átomos distintos del hidrógeno. En el caso de B3LYP, los valores de $\sigma(N_3)$ se reducen cuando se utilizan las mejores bases de funciones. Se observa el mismo comportamiento para $\sigma(H_3)$. Para el caso del carbono C_2 , su valor de apantallamiento se vuelve menos diamagnético (alrededor de 15%) cuando se cambia la base de cc-pVTZ a cc-pCVTZ. En el caso de $\sigma(C_2)$ la variación es $\simeq 30\%$, siendo similar a lo que ocurre cuando la base cambia de cc-pVTZ a cc-pVQZ. Por último, $\sigma(C_4)$ varía desde 17.16 ppm a 11.47 ppm cuando la base cambia de cc-pVTZ a aug-cc-pCVTZ.

A partir de este análisis de los apantallamientos en timina se puede suponer que, para el conjunto de átomos estudiados (se considera que ellos representan el comportamiento de todos los demás en la timina), la base cc-pVTZ comúnmente usada no es lo suficientemente buena y, por lo tanto, se debe utilizar como mínimo la base cc-pCVTZ.

Tabla 3.2: Cálculos de σ (en ppm) y acoplamientos J (en Hz) para timina empleando diferentes funcionales y bases de funciones. Los resultados obtenidos empleando el esquema LDBS se hallan entre paréntesis.

	Funcional	$\sigma(\text{N}_3)$	$\sigma(\text{H}_3)$	$\sigma(\text{C}_2)$	$\sigma(\text{C}_4)$	$J(\text{N}_3\text{-H}_3)$
cc-pVTZ	B3LYP	82.34	24.77	30.92	17.16	-83.48
	BHANDHLYP	92.47	24.68	30.80	17.18	-90.17
	KT2	93.77	24.71	48.48	36.55	-78.62
	KT3	94.58	24.86	49.02	36.96	-81.47
aug-cc-pVTZ	B3LYP	81.24 (81.17)	24.45 (24.44)	30.58 (30.49)	16.52 (16.65)	-91.75 (-91.33)
	BHANDHLYP	(91.26)	(24.38)	(30.71)	(16.75)	(-98.02)
	KT2	93.33 (93.25)	24.37 (24.35)	48.54 (48.36)	36.29 (36.35)	-87.10 (-86.56)
	KT3	93.94 (93.83)	24.54 (24.51)	49.08 (48.87)	36.83 (36.83)	-90.35 (-89.78)
cc-pVQZ	B3LYP	76.59 (76.94)	24.46 (24.49)	25.35 (25.53)	11.21 (11.36)	-87.11 (-87.19)
	BHANDHLYP	(87.65)	(24.43)	(26.46)	(12.30)	(-94.80)
	KT2	89.79 (90.20)	24.39 (24.41)	44.68 (44.89)	32.45 (32.62)	-83.73 (-83.79)
	KT3	90.48 (90.83)	24.56 (24.58)	45.39 (45.54)	33.19 (33.25)	-87.36 (-87.40)
aug-cc-pVQZ	B3LYP	75.88 (76.03)	24.35 (24.36)	25.12 (25.05)	10.56 (10.78)	-85.92 (-86.27)
	BHANDHLYP	(86.76)	(24.29)	(26.10)	(11.82)	(-93.94)
	KT2	89.04 (89.23)	24.27 (24.27)	44.03 (44.31)	31.75 (31.94)	-84.42 (-84.11)
	KT3	89.58 (89.75)	24.44 (24.44)	44.61 (44.93)	32.27 (32.53)	-87.99 (-87.70)
cc-pCVTZ	B3LYP	78.79 (78.76)	24.79 (24.79)	26.64 (26.63)	12.39 (12.38)	-85.85 (-85.79)
	BHANDHLYP	(89.90)	(24.69)	(27.73)	(13.62)	(-92.32)
	KT2	88.32 (88.26)	24.73 (24.73)	42.03 (42.03)	29.50 (29.50)	-92.72 (-92.65)
	KT3	88.81 (88.74)	24.89 (24.88)	42.35 (42.35)	29.75 (29.75)	-93.83 (-93.76)
aug-cc-pCVTZ	B3LYP	77.28 (77.23)	24.47 (24.46)	25.73 (25.71)	11.47 (11.52)	-85.90 (-85.37)
	BHANDHLYP	(88.38)	(24.40)	(27.04)	(12.85)	(-91.73)
	KT2	86.80 (86.75)	24.39 (24.38)	41.14 (41.10)	28.61 (28.65)	-92.68 (-92.15)
	KT3	87.31 (87.24)	24.55 (24.54)	41.46 (41.41)	28.90 (28.92)	-93.70 (-93.20)
cc-pCVQZ	B3LYP	74.78 (75.08)	24.58 (24.61)	23.12 (23.17)	8.79 (8.82)	-85.57 (-85.47)
	BHANDHLYP	(86.37)	(24.52)	(24.55)	(10.17)	(-92.39)
	KT2	85.24 (85.57)	24.49 (24.52)	39.65 (39.69)	27.09 (27.12)	-85.97 (-85.85)
	KT3	85.70 (85.97)	24.67 (24.69)	39.99 (40.03)	27.40 (27.41)	-88.99 (-88.85)
aug-cc-pCVQZ	KT2	84.64 (84.62)	24.33 (24.35)	39.34 (39.30)	26.74 (26.75)	-85.92 (-85.79)
	KT3	84.97 (85.00)	24.49 (24.51)	39.67 (39.64)	27.06 (27.04)	-89.02 (-88.89)

Tabla 3.3: Resultados de acoplamiento J calculados en timina usando los niveles de teoría DFT-B3LYP, DFT-KT3 y SOPPA junto con la base cc-pVTZ. Todos los valores se encuentran expresados en Hz.

	C ₄ -N ₃	N ₃ -H ₃	C ₂ -N ₁	N ₁ -H ₁
B3LYP	-8.11	-83.48	-20.21	-89.50
KT3	1.73	-81.47	-9.33	-88.72
SOPPA	-8.89(-9.31) ^a	-83.73	-20.59	-88.98

^a El valor entre paréntesis fue calculado a nivel SOPPA/aug-cc-pCVTZ.

En la Tabla 3.3 se puede apreciar que el desempeño de la funcional B3LYP con la base que se detalla es una buena opción para el cálculo de acoplamiento J . Este hecho se desprende de la comparación con los resultados obtenidos a nivel SOPPA de aproximación. Otro resultado importante es que el valor de $J(\text{N}_3\text{-H}_3)$ está casi saturado en cuanto a la mejora de la base, para la base aug-cc-pCVQZ (-85.92 Hz) o equivalentemente para cc-pCVTZ (-85.85 Hz). En el caso de $J(\text{C}_4\text{-N}_3) = -9.31$ Hz a nivel SOPPA/aug-cc-pCVTZ, se acerca al valor calculado con cc-pVTZ (Tabla 3.3). Queda claro además que el funcional KT3 no describe de manera adecuada los acoplamiento $J(\text{C-N})$.

Vale la pena mencionar que, si bien el comportamiento de los resultados obtenidos con el funcional BHANDHLYP (tal como ocurre con KT2 y KT3) es similar al que se obtiene con B3LYP, los tiempos de cálculo demandados por los funcionales KT2 y KT3 son mucho menores (alrededor del 40 % menores).

A continuación se evalúan las regiones de la molécula que deben ser descritas a un nivel mayor que aquel utilizado para todo el sistema, mediante la aplicación de un esquema LDBS^[67-69]. Se pueden distinguir dos regiones bien delimitadas dentro de las bases nitrogenadas: las que están dentro del cuadro con línea de puntos (ver Fig. 3.1), descritas con la base de funciones que se detalla en la Tabla 3.2; y otra región por fuera de la mencionada anteriormente, descrita con la base cc-pVTZ para átomos

Tabla 3.4: Apantallamientos y corrimientos químicos en 9-metil adenina y timina a nivel de teoría KT3/cc-pCVTZ. Valores en ppm.

	σ	δ^a	δ_{exp}^b	δ^c	δ_{exp}^d
9-Me-adenina					
N ₁	14.69	249.81	236.10	-150.49	-144
N ₃	20.40	244.10	226.10	-156.20	-157
N ₆	182.21	82.29	81.10	-318.01	-297
C ₂	36.92	151.18	152.35		
C ₆	37.88	150.22	155.83		
H ₂	23.62	7.22	8.14		
timina					
N ₁	119.54			-255.34	-236
N ₃	88.81			-224.54	-224

^aValores obtenidos usando TMS como referencia para hidrógeno y carbono, y NH₃ para nitrógeno. ^bValores experimentales tomados de Ref. 33 (se tomó como referencia TMS para H y C, y NH₃ para N). ^cValores obtenidos usando nitrometano como referencia. ^dValores experimentales tomados de Ref. 39 (donde se usó nitrometano como referencia para N).

distintos del hidrógeno, y 6-31G para el caso de hidrógenos. El criterio de selección de las regiones se basa en la inclusión de la menor cantidad de átomos descriptos al mayor nivel, sin que por ello varíe apreciablemente el valor obtenido cuando el sistema completo se describe con la misma base. Los resultados de los cálculos obtenidos empleando el esquema LDBS se presentan entre paréntesis en la Tabla 3.2. Esta metodología dio lugar a una reducción apreciable en el costo computacional asociado a este tipo de cálculos.

Con este análisis se obtienen las condiciones adecuadas para seleccionar la combinación de funcional y base de funciones para luego ser usado en sistemas de gran tamaño. Luego de la evaluación de los resultados obtenidos y en base a criterios de convergencia, saturación, precisión y tiempo demandado para los cálculos, se decidió utilizar la combinación funcional-base KT3/cc-pCVTZ como la mejor opción del nivel de teoría a ser empleado para el cálculo de apantallamientos, en conjunto con las mejoras en cuanto a rendimiento computacional que introduce el uso del esquema de bases localmente densas. Para probar el desempeño de esta combinación de funcional-base, se compararon resultados de corrimientos químicos calculados con corrimientos químicos experimentales tomados de la bibliografía (Tabla 3.4). Sin embargo, para el cálculo de acoplamientos indirectos, el funcional a emplear será B3LYP dada la dificultad del KT3 para reproducir en forma adecuada los acoplamientos J(C-N).

3.3. Parámetros espectroscópicos de la RMN en AT y GC

Se introduce en esta sección el análisis de los apantallamientos magnéticos de átomos seleccionados que pertenecen a la región que participa más activamente de las interacciones por enlace de hidrógeno entre dos bases nitrogenadas. Las estructuras geométricas de los monómeros, junto con los pares adenina-timina y guanina-citosina, fueron optimizadas sin restricciones en los parámetros geométricos. Los cálculos de apantallamientos magnéticos fueron realizados a nivel DFT (KT3//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G, donde el primer conjunto de funciones de la base se aplicó a la región de interés, mientras que el segundo conjunto se aplicó a las regiones de menor interés. Además, para los átomos de hidrógeno pertenecientes a esta segunda región, se empleó una base 6-31G. En todos los casos se empleó el esquema LDBS. En las Tablas 3.5 y 3.6 se exponen los valores de los apantallamientos y corrimientos químicos calculados.

Tanto el hidrógeno H₃ de timina como el hidrógeno H₆ de adenina (Tabla 3.5) exhiben valores de corrimiento químico teóricos cercanos a los valores experimentales.

Lo mismo ocurre para los carbonos C_2 . Sin embargo, en el caso de átomos de nitrógeno se producen diferencias de alrededor del 10 %, lo que está de acuerdo con lo que se mencionó al inicio de este capítulo. Únicamente se incluyeron los apantallamientos de nitrógenos involucrados en el EH, $N_1 \cdots H_3-N_3$ y $N_6-H_6 \cdots O_4$. Sólo los valores de nitrógenos que actúan como donadores varían apreciablemente cuando se consideran las diferencias entre monómeros (adenina y timina) y el dímero AT. Para el caso de timina, $\sigma(N_3)$ varía de 88.81 ppm (monómero) a 81.08 ppm (dímero); para adenina los valores de $\sigma(N_6)$ son 181.78 y 171.86 ppm, respectivamente. En este último monómero, el comportamiento de $\sigma(N_1)$ es similar al de un átomo aceptor, de modo que se vuelve más apantallado luego de que se formara el par. Su valor de apantallamiento varía desde 13.41 ppm a 28.95 ppm.

Por otro lado, dos de los tres átomos de hidrógeno que se consideran, el H_6 que pertenece a adenina y el H_3 de la timina, exhiben una gran reducción de sus apantallamientos: de 27.19 ppm a 22.43 ppm y de 24.89 a 17.06 ppm, respectivamente. Este comportamiento se relaciona con el desapantallamiento (deshielding) que usualmente muestra un hidrógeno que pertenece a un EH. El apantallamiento del hidrógeno H_2 de adenina no varía, puesto que no forma parte de un EH.

El desapantallamiento de los hidrógenos H_6 y H_3 es tal que el mayor efecto se observa en H_3 (su desapantallamiento es de 31.46 %), siendo el desapantallamiento del hidrógeno H_6 de sólo la mitad del correspondiente al hidrógeno H_3 (17.51 %). Esto significa que el hidrógeno que pertenece a la interacción homonuclear $N_1 \cdots H_3-N_3$ está más desapantallado que el hidrógeno que pertenece a la interacción heteronuclear, $N_6-H_6 \cdots O_4$.

De esta manera se encuentra que la proporción de desapantallamiento de los hidrógenos que pertenecen a un EH, está relacionada con la fortaleza de la interacción por enlace de hidrógeno.^[6] Es así que la fortaleza del enlace al que pertenece H_3 , el cual está desapantallado en un 31.46 %, es más grande que aquel al que pertenece H_6 , desapantallado en un 17.51 %.

En general el apantallamiento que experimentan los carbonos C_2 de adenina y C_2

de timina es muy pequeño. Sin embargo, los carbonos C_6 de adenina y C_4 de timina están ubicados en posiciones particulares de la molécula. Ambos carbonos forman parte de la estructura vecina a un EH, y por lo tanto están desapantallados, aunque el carbono C_4 en mayor proporción. La razón por la cual ocurre esto es que el carbono C_6 está enlazado al nitrógeno N_6 , que está desapantallado, y al nitrógeno N_1 , más apantallado. Por otro lado el carbono C_4 está unido al nitrógeno N_3 , el cual está desapantallado más que el nitrógeno N_6 de adenina.

Tabla 3.5: Valores de apantallamientos magnéticos para los monómeros de adenina y timina, y el par AT (en ppm) calculados a nivel de teoría KT3//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G.

	Adenina						Timina			
	N ₆	N ₁	C ₆	C ₂	H ₆	H ₂	N ₃	C ₂	C ₄	H ₃
Apantallamientos										
Monómero ^a	181.78	13.41	37.90	36.35	27.19	23.38	88.81	42.35	29.75	24.89
Dímero ^a	171.86	28.95	35.57	37.30	22.43	23.13	81.08	41.20	23.99	17.06
Corrimientos químicos										
Dímero	92.64		152.5	150.8	8.41		183.4	146.90	164.11	13.78
Exp. ^b	82-84		157-158	152-156	7-8		156	154	169	13-14

^aEstructuras optimizadas para cada monómero y el par AT.

^bValores experimentales de corrimiento químico tomados de Ref. 199.

Tabla 3.6: Valores de apantallamientos magnéticos para los monómeros de guanina y citosina, y el par GC (en ppm) calculados a nivel de teoría KT3//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G.

	Guanina						Citosina				
	N ₁	N ₂	C ₆	C ₂	H ₁	H ₂	N ₄	N ₃	C ₄	C ₂	H ₄
Apantallamientos											
Monómero ^a	98.31	186.92	38.66	39.59	24.93	28.39	172.72	27.00	29.72	40.01	27.43
Dímero ^a	100.48	177.57	32.31	37.72	18.73	22.95	148.79	45.63	26.67	36.33	19.86
Corrimientos químicos											
Dímero	164.02	86.93	155.79	150.38	12.11	7.89	115.71	218.87	161.43	151.77	10.98
Exp. ^b	146-149	72-76	161	156	12-13.6	8-9	94-98	210	166-168	159	8.1-8.8

^aEstructuras optimizadas para cada monómero y el dímero GC.

^bValores experimentales de corrimiento químico tomados de Ref. 199

Para el caso del par guanina-citosina, se analizan en mayor detalle los cuatro nitrógenos que pertenecen a los tres enlaces de hidrógeno: $N_1-H_1 \cdots N_3$, $N_2-H_2 \cdots O_2$ y $O_6 \cdots H_4-N_4$. Del mismo modo que para el par adenina-timina, aquellos nitrógenos que se comportan como donadores en una interacción de hidrógeno heteronuclear sufrirán una reducción de sus apantallamientos cuando se comparan entre sí los valores correspondientes en los monómeros y en el dímero. El apantallamiento del nitrógeno N_2 de guanina varía de 186.92 ppm a 177.57 ppm; y para el nitrógeno N_4 de citosina varía de 172.72 ppm to 148.79 ppm, siendo ambos nitrógenos parte de las interacciones heteronucleares. Por otro lado el nitrógeno N_1 de guanina varía de 98.31 ppm a 100.48 ppm y nuevamente su comportamiento es similar al de un donador perteneciente a una interacción homonuclear. En el caso de un nitrógeno aceptor, el valor de apantallamiento para el nitrógeno N_3 de citosina cambia de 27.00 ppm a 45.63 ppm, siguiendo el comportamiento típico de átomos similares en el par AT.

Se analiza ahora lo que sucede para los átomos de hidrógeno, H_1 y H_2 de guanina y H_4 de citosina, que participan de la formación de tres EH intermoleculares en el par GC. Es esta la razón por la que los tres hidrógenos están desapantallados. Las proporciones son las siguientes: para el hidrógeno H_1 la variación es de 24.87 %; 19.16 % para el hidrógeno H_2 y 27.60 % para el hidrógeno H_4 . El comportamiento de los apantallamientos en este dímero es diferente a los del de AT, dado que presentan una gran proporción de cambio en interacciones homonucleares. Sin embargo en el caso de interacciones heteronucleares como $O_6 \cdots H_4-N_4$, la variación es aún mayor.

Del mismo modo que para AT, se puede relacionar nuevamente el porcentaje de desapantallamiento de los hidrógenos con la fortaleza del enlace de hidrógeno en el que participan. Aplicando este criterio se puede establecer un orden para cada una de estas interacciones: $N_2-H_2 \cdots O_2 < N_1-H_1 \cdots N_3 < O_6 \cdots H_4-N_4$, lo que coincide con resultados anteriores.^[6]

En lo concerniente a los átomos de carbono, puede verse que los carbonos C_2 y C_6 de guanina y C_2 y C_4 de citosina, están localizados entre los tres centros en los cuales se establecen las interacciones de hidrógeno, de modo que experimentan

gran actividad electrónica. Estos cuatro carbonos sufren desapantallamiento cuando se forma el par GC, siendo los carbonos C₆ de guanina y C₄ de citosina los más influenciados debido a la proximidad de los sitios en los que ocurren las mayores variaciones de los apantallamientos.

Capítulo 4

Influencia del apilamiento $\pi - \pi$ sobre los parámetros magnéticos en fragmentos de ADN

En este capítulo se analiza lo observado en sistemas que contienen más de un par de bases nitrogenadas, es decir un número reducido de pares apilados por arriba y por debajo de un par central, el cual, como se verá más adelante, se tomará como testigo de los cambios que sufren los parámetros magnéticos al incrementar el tamaño del fragmento de ADN.

4.1. Modelos empleados

Con el objeto de poder comparar los valores de parámetros espectroscópicos calculados con valores experimentales, se buscó trabajar con estructuras más realistas a las que podrían obtenerse a partir de sistemas construidos y optimizados. En este sentido, fue necesario un fragmento de ADN de doble hebra en su conformación más estable. Otra característica buscada fue la posibilidad estudiar las diferencias existentes entre fragmentos ricos en secuencias de pares AT y en secuencias GC. En base a estas consideraciones, se eligió un fragmento de ADN extraído del *Protein*

Data Bank (**PDB ID:** 1BNA), correspondiente a la estructura cristalina de un dodecámero de doble cadena de B-ADN, cuya secuencia de nucleótidos es la siguiente: 5' d(CGCGAATTCGCG) 3'. Se tomaron pequeños fragmentos de este dodecámero para los primeros estudios.

Con el fin de hacer posible su tratamiento, se eliminaron todos los azúcares y grupos fosfato, reemplazándolos por átomos de hidrógeno. La estructura geométrica del dodecámero se mantuvo sin modificaciones.

De la secuencia de bases pertenecientes al dodecámero, se puede fácilmente obtener la secuencia de la cadena complementaria. De esta manera, a fin de mostrar de manera más sencilla cómo aparecen los pares de bases en el sistema de partida, se presenta el siguiente esquema:

Par de bases	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cadena principal	C	G	C	G	A	A	T	T	C	G	C	G
Cadena complementaria	G	C	G	C	T	T	A	A	G	C	G	C

Debido a que el par adenina-timina contiene dos EH y el par guanina-citosina contiene tres, se seleccionaron dos tipos de fragmentos, según fueran más ricos en pares GC o AT. De este modo se consideraron las secuencias CGCGA (correspondiente a los pares 12345) y AATTC (que corresponde a los pares 56789).

Dado que el interés está focalizado en un sólo par que se utiliza como testigo de lo que ocurre en un determinado fragmento, se eligió el par central del fragmento CGCGA, identificado como par 3, y el par central del fragmento AATTC, identificado como 7. Este par central es el mismo para las secuencias que contienen tres y cinco pares, ya que de hecho las secuencias más pequeñas (con tres pares) se extraen del centro de los fragmentos de cinco pares. De este modo, la secuencia GCG se corresponde con los pares 234, en tanto que ATT se corresponde con los pares 678.

Se estudiaron las propiedades magnéticas del par central en tres sistemas diferentes para cada tipo de fragmento: a) cuando el par central se halla aislado; b) cuando el

par central se halla en el centro de la secuencia de tres pares y c) cuando el par central se halla en el centro de cinco pares.

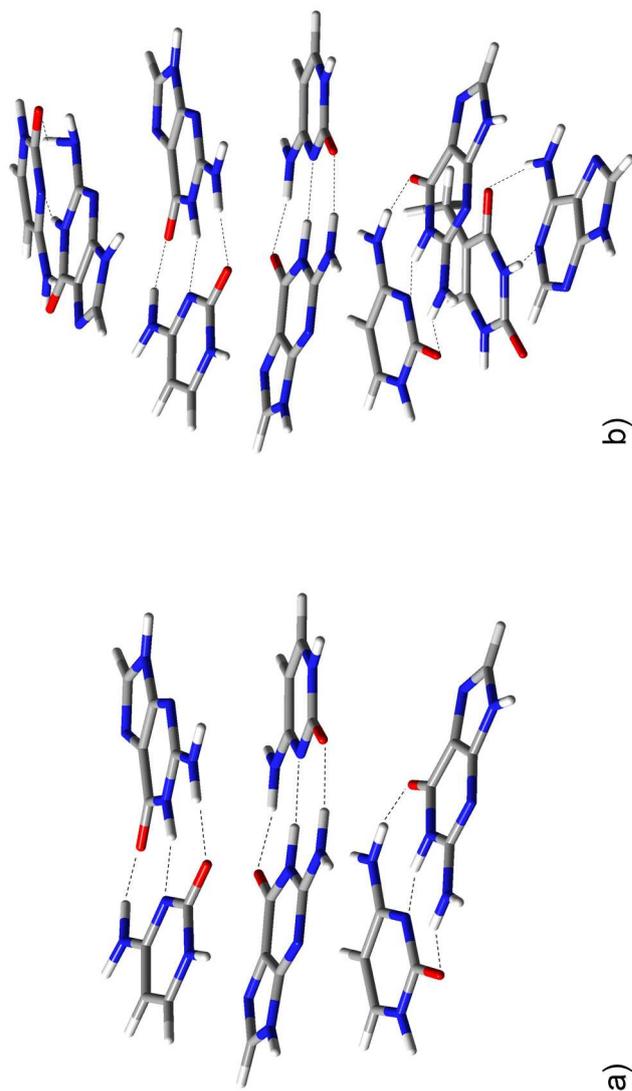


Figura 4.1: a) Secuencia de tres pares de bases apiladas, GCG y b) Secuencia de cinco pares de bases apiladas, CGCGA. Todos los fragmentos fueron tomados de los datos cristalográficos sin optimizaciones posteriores. Solamente se optimizaron las posiciones geométricas de los hidrógenos añadidos como reemplazo de los azúcares eliminados.

4.2. Niveles de teoría y detalles computacionales

En el capítulo anterior se presentaron las metodologías y niveles de teoría más apropiados para que fueran suficientemente confiables los resultados de los cálculos de los parámetros magnéticos aplicados a los sistemas de nuestro interés. Tal discusión nos condujo a decidir que el nivel de teoría más apropiado es DFT con un funcional KT3 y un esquema de bases localmente densas. Para ello se diferenciaron las regiones que requieren mejores descripciones de aquellas que no, y se propuso utilizar los conjuntos cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G (donde los hidrógenos de la segunda región fueron descritos con la base 6-31G), ordenados en función de la importancia de la región a ser descrita. Este es el esquema adoptado en el estudio presentado en este capítulo para la determinación de apantallamientos.

No obstante, con el objeto de evaluar cuán importantes son los efectos de dispersión sobre los parámetros espectroscópicos, se empleó el funcional B97^[85] y su equivalente con inclusión de correcciones por dispersión B97-D^[57]. Por otro parte, para el caso de los acoplamientos indirectos entre espines nucleares se optó por emplear el funcional B3LYP junto con una base 6-311G(2df,2pd); este esquema es similar al empleado por Marek y coautores^[33]. Se incluye además el estudio de acoplamientos para los pares AT y GC optimizados a nivel B3LYP/cc-pVTZ.

4.3. Apantallamientos magnéticos

En la Tabla 4.1 se presentan valores de apantallamientos y corrimientos químicos para el par AT en los tres sistemas mencionados anteriormente: a) cuando AT se encuentra aislado (lo que corresponde sólo al par 7), b) cuando AT se halla en el centro de la secuencia de tres pares (ATT o pares 678) y c) cuando AT se encuentra en la secuencia de cinco pares (AATTC o pares 56789). Puede observarse que el nitrógeno N₆ de adenina es el más sensible a los cambios del entorno, al pasar del sistema a) al b).

Tabla 4.1: Apantallamientos magnéticos y corrimientos químicos en el par AT (en ppm) calculados a nivel KT3//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G de teoría.

	Adenina						Timina			
	N ₆	N ₁	C ₆	C ₂	H ₆	H ₂	N ₃	C ₂	C ₄	H ₃
Apantallamiento										
Aislado ^a	174.87	31.77	35.30	38.04	24.83	23.16	85.91	37.58	26.34	17.36
ATT ^b	170.63	31.85	36.24	36.05	24.81	23.33	85.34	38.37	26.94	17.91
AATTC ^b	170.00	31.82	36.35	36.45	25.07	23.58	85.44	38.51	27.31	18.20
Corrimiento químico										
Aislado	89.63		152.8	150.06	6.01		178.59	150.52	161.76	13.48
ATT	93.87		151.86	152.05	6.03		179.16	149.73	161.16	12.93
Exp. ^c	82-84		157-158	152-156	7-8		156	154	169	13-14

^aPar AT central, aislado de las secuencias de tres pares (ATT) y de cinco pares (AATTC).

^bPar AT central, inserto en las secuencias de tres y cinco pares.

^cValores experimentales de corrimiento químico tomados de Ref. 199.

Su apantallamiento cambia de 174.87 ppm a 170.63 ppm. Cuando se suman más pares al sistema por arriba y debajo del par central (par 7), se observa un pequeño cambio, aunque si se comparan los valores de los fragmentos con los del par aislado, el cambio que se produce es mucho más importante.

De la misma manera se observa que el valor de $\sigma(C_6)$ en la adenina se incrementa, junto con los valores de $\sigma(C_2)$ y $\sigma(C_4)$ en la timina al considerar las estructuras más complejas. Esto ocurre principalmente cuando se evalúan los apantallamientos del par aislado y posteriormente se comparan con los valores en el fragmento ATT. La diferencia nuevamente se incrementa al comparar el par AT aislado y cuando forma parte del fragmento AATTC.

Por otro lado, el patrón de comportamiento de $\sigma(C_2)$ en adenina es diferente. El apantallamiento de este carbono cambia de 38.04 ppm a 36.05 ppm cuando se pasa del par aislado al par que forma parte del fragmento AAT, respectivamente. Sin embargo, en lugar de continuar disminuyendo su valor al considerar el fragmento AATTC, este apantallamiento aumenta. En el caso de átomos de hidrógeno, sólo el H_3 de timina es más sensible a los cambios en el entorno. Esto queda claro para apantallamientos en el par aislado y cuando se halla dentro del fragmento AATTC.

Los apantallamientos de átomos pertenecientes al par GC se presentan en la Tabla 4.2. Tal como se explicó para el caso del par AT, se pueden analizar los valores del apantallamiento en el sistema aislado (que se corresponde con el par 3), en la secuencia de tres pares (GCG o pares 234) y en la secuencia de cinco pares (CGCGA o pares 12345).

En general, el apantallamiento en átomos de nitrógeno exhibe diferencias cuando se pasa del par GC aislado hacia el sistema con GC en el centro de la secuencia con tres pares, GCG. Los valores de $\sigma(N_1)$ y $\sigma(N_2)$ de guanina presentan las mayores diferencias: de 105.60 ppm a 102.66 ppm, y de 177.81 ppm a 168.63 ppm, respectivamente.

Tabla 4.2: Apantallamientos magnéticos y corrimientos químicos en el par GC (en ppm) calculados a nivel KT3//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G de teoría.

	Guanina						Citosina				
	N ₁	N ₂	C ₆	C ₂	H ₁	H ₂	N ₄	N ₃	C ₄	C ₂	H ₄
Apantallamiento											
Aislado ^a	105.60	177.81	34.23	36.06	18.69	22.29	148.49	47.76	25.04	38.22	20.19
GCG ^b	102.66	168.63	34.19	34.68	18.71	22.25	147.91	48.64	25.58	38.97	20.83
CGGA ^b	102.89	168.70	34.34	34.96	19.01	22.60	148.53	48.28	25.76	39.21	21.01
Corrimiento Químico											
Aislado	158.9	86.29	153.87	152.04	12.15	8.55	116.01	216.74	163.06	149.88	10.65
GCG	161.84	95.87	153.91	153.42	12.13	8.59	116.59	215.86	162.52	149.13	10.01
Exp. ^c	146-149	72-76	161	156	12-13.6	8-9	94-98	210	166-168	159	8.1-8.8

^aPar GC central, aislado de las secuencias de tres pares (GCG) y de cinco pares (CGGA).

^bPar GC central, inserto en las secuencias de tres y cinco pares.

^cValores experimentales de corrimiento químico tomados de Ref. 199.

Tal como ocurre en fragmentos que contienen un mayor número de pares AT, en el caso de GC los valores del apantallamiento no varían en gran medida desde GCG a CGCGA. Por otra parte, existe una diferencia con los pares AT ya que se observan apantallamientos en el sistema aislado y en la secuencia de cinco pares que se comportan de manera opuesta a como lo hacen en la secuencia de tres pares, GCG.

Es necesario remarcar aquí el hecho de que hay átomos que son más sensibles que otros al apilamiento o stacking π . En el caso de los carbonos, los átomos C₂ de la guanina y C₂ de la citosina son los más sensibles, incluso cuando el primero se halla más desapantallado. Esto se debe a que el carbono C₂ en la citosina se ubica entre los nitrógenos N₁ y N₂, los que se encuentran más afectados cuando forma parte del fragmento GCG.

En el caso de los hidrógenos H₁ y H₂ de guanina y H₄ de citosina, sus apantallamientos tienden a incrementarse desde el par GC aislado hacia el fragmento de cinco pares.

Con el objeto de sintetizar y ordenar la información que arriba se detalla, se presenta en la Tabla 4.3 las variaciones de los valores de apantallamientos de átomos que pertenecen a las bases nitrogenadas en los diferentes sistemas estudiados. La secuencia considerada en la tabla es: Aislado \rightarrow tres pares de bases \rightarrow cinco pares de bases. La información aportada muestra similitudes que deben ser remarcadas.

Es posible ver que átomos equivalentes en bases equivalentes poseen valores similares de apantallamiento; por ejemplo, los carbonos C₂ y C₄ en timina y citosina, respectivamente, y los hidrógenos H₆ y H₂ en adenina y guanina, respectivamente. Ellos siguen los mismos patrones y sus magnitudes son muy similares.

Los apantallamientos de los átomos de nitrógeno que se comportan como donadores en los EH, como N₂ en guanina y N₆ en adenina, pueden variar entre 4 y 5% cuando sus valores son tomados a partir de cálculos de los dímeros AT y GC aislados, o bien de fragmentos de tres pares. Si en cambio estos valores se calculan para fragmentos de tres y cinco pares de bases, se encuentra que las variaciones son bastante pequeñas. De modo que los apantallamientos de estos nitrógenos están más

Tabla 4.3: Patrón de variaciones de los valores de apantallamiento para átomos pertenecientes a alguno de los pares.

Secuencia	1 \rightarrow 3 \rightarrow 5	1 \rightarrow 3 \rightarrow 5
Atomo\Base	Timina (σ , ppm)	Citosina (σ , ppm)
C ₂	37.58 \rightarrow 38.37 \rightarrow 38.51	38.22 \rightarrow 38.97 \rightarrow 39.21
C ₄	26.34 \rightarrow 26.94 \rightarrow 27.31	25.04 \rightarrow 25.58 \rightarrow 25.76
H ₃ ; H ₄	17.36 \rightarrow 17.91 \rightarrow 18.20	20.19 \rightarrow 20.83 \rightarrow 21.01
Atomo\Base	Timina (σ , ppm)	Guanina (σ , ppm)
H ₃ ; H ₁	17.36 \rightarrow 17.91 \rightarrow 18.20	18.69 \rightarrow 18.71 \rightarrow 19.01
Atomo\Base	Adenina (σ , ppm)	Guanina (σ , ppm)
H ₆ ; H ₂	24.83 \rightarrow 24.81 \rightarrow 25.07	22.29 \rightarrow 22.25 \rightarrow 22.60
C ₆ ; C ₂	35.30 \rightarrow 36.24 \rightarrow 36.35	36.06 \rightarrow 34.68 \rightarrow 34.96
N ₆ ; N ₂	174.87 \rightarrow 170.63 \rightarrow 170.00	177.81 \rightarrow 168.63 \rightarrow 168.70

influenciados por el efecto del apilamiento que por efectos cooperativos dentro de fragmentos de una doble hélice de ADN. Un comportamiento similar se observa para átomos de carbono unidos a los átomos de nitrógeno antes mencionados.

4.4. Acoplamientos indirectos J

Se realizó el análisis de los acoplamientos J de la RMN en dímeros cuyas estructuras geométricas fueron optimizadas, y en los pertenecientes a los fragmentos de ADN de interés para este trabajo. En el último caso se consideraron tres posibilidades para el par usado como testigo, del mismo modo que en el caso del análisis de apantallamientos: aislado, en el centro de tres pares de bases apilados y en el centro de cinco pares de bases apilados.

Tabla 4.4: Acoplamientos indirectos J (en Hz) para el par adenina-timina a nivel B3LYP/6-311G(2df,2pd) de teoría.

		FC	SD	PSO	DSO	Total	Exp. ^{a,b}
Optimizado	J(N ₆ -H ₆)	-90.07	-0.14	-1.51	-0.42	-92.14	
	J(N ₁ -C ₂)	-4.50	-0.41	4.90	-0.13	-0.14	
	J(N ₁ -N ₃)	-4.71	-0.06	0.03	-0.01	-4.75	
	J(N ₃ -C ₄)	-13.44	-0.08	3.18	-0.17	-10.51	
	J(N ₃ -H ₃)	-80.67	-0.06	-0.91	-0.60	-82.24	
Aislado	J(N ₆ -H ₆)	-90.70	-0.22	-1.91	-0.39	-93.22	88
	J(N ₁ -C ₂)	-6.28	-0.39	4.62	-0.13	-2.18	
	J(N ₁ -N ₃)	-4.94	-0.04	0.01	-0.01	-4.98	
	J(N ₃ -C ₄)	-14.48	-0.08	3.07	-0.17	-11.66	10.7 ^c
	J(N ₃ -H ₃)	-90.94	-0.18	-0.81	-0.66	-92.59	91 ^c
ATT	J(N ₆ -H ₆)	-90.88	-0.24	-1.73	-0.53	-93.38	
	J(N ₁ -C ₂)	-5.70	-0.41	4.66	-0.17	-1.62	
	J(N ₁ -N ₃)	-4.88	-0.04	0.03	-0.03	-4.92	
	J(N ₃ -C ₄)	-14.49	-0.08	3.10	-0.20	-11.67	
	J(N ₃ -H ₃)	-90.46	-0.18	-0.65	-0.81	-92.10	
AATTC	J(N ₆ -H ₆)	-90.74	-0.24	-1.70	-0.55	-93.23	
	J(N ₁ -C ₂)	-5.75	-0.41	4.67	-0.17	-1.66	
	J(N ₁ -N ₃)	-4.88	-0.04	0.03	-0.03	-4.92	
	J(N ₃ -C ₄)	-14.53	-0.08	3.10	-0.21	-11.72	
	J(N ₃ -H ₃)	-90.48	-0.18	-0.62	-0.83	-92.11	

^aValores experimentales tomados de Ref. 199.

^bLas diferencias de signos se deben a que en ocasiones no se pueden determinar de forma experimental.

^cValor experimental correspondiente a uracilo.

Tabla 4.5: Acoplamientos indirectos J (en Hz) para el par guanina-citosina a nivel B3LYP/6-311G(2df,2pd) de teoría.

		FC	SD	PSO	DSO	Total	Exp. ^{a,b}
Optimizado	J(C ₆ -N ₁)	-12.91	-0.17	2.88	-0.15	-10.35	
	J(N ₁ -H ₁)	-80.27	-0.03	-1.21	-0.60	-82.12	
	J(N ₁ -N ₃)	-3.53	-0.04	0.03	-0.01	-3.56	
	J(N ₂ -H ₂)	-86.77	-0.13	-1.53	-0.42	-88.86	
	J(N ₄ -H ₄)	-85.68	-0.13	-1.05	-0.42	-87.29	
Aislado	J(C ₆ -N ₁)	-17.02	-0.15	3.02	-0.17	-14.32	7.5
	J(N ₁ -H ₁)	-80.06	-0.10	-1.15	-0.67	-81.98	90
	J(N ₁ -N ₃)	-4.12	-0.04	0.04	-0.01	-4.13	5.5 ^c
	J(N ₂ -H ₂)	-88.54	-0.15	-1.32	-0.46	-90.47	91
	J(N ₄ -H ₄)	-90.04	-0.22	-0.91	-0.45	-91.62	86
GCG	J(C ₆ -N ₁)	-17.17	-0.14	3.04	-0.20	-14.47	
	J(N ₁ -H ₁)	-80.20	-0.11	0.90	-0.83	-82.04	
	J(N ₁ -N ₃)	-4.22	-0.04	0.04	-0.01	-4.23	
	J(N ₂ -H ₂)	-88.84	-0.17	-1.08	-0.59	-90.68	
	J(N ₄ -H ₄)	-90.04	-0.22	-0.80	-0.58	-91.64	
CGCGA	J(C ₆ -N ₁)	-17.24	-0.14	3.07	-0.21	-14.52	
	J(N ₁ -H ₁)	-80.15	-0.11	-0.88	-0.84	-81.98	
	J(N ₁ -N ₃)	-4.22	-0.04	0.04	-0.03	-4.25	
	J(N ₂ -H ₂)	-88.81	-0.18	-1.07	-0.62	-90.68	
	J(N ₄ -H ₄)	-90.01	-0.22	-0.77	-0.59	-91.59	

^aValores experimentales tomados de Ref. 199.

^bLas diferencias de signos se deben a que en ocasiones no se pueden determinar de forma experimental.

^cValor experimental tomado de Ref. 29.

Para este parámetro espectroscópico en particular no se estudiaron los efectos de apareamiento entre bases, es decir, cómo cambia J cuando se consideran primero los monómeros y luego los dímeros. Nos interesó específicamente el efecto del apilamiento sobre J .

Tal como ya se había mencionado, el funcional KT3 no logra reproducir adecuadamente todos los acoplamientos, por lo que el funcional elegido para evaluar este parámetro debía ser B3LYP. El cálculo confiable de un acoplamiento indirecto requiere un conjunto de bases de gran tamaño.^[109] Se ha encontrado que agregar funciones de polarización o funciones difusas en átomos pesados, y pasar de una base doble a una triple zeta de valencia, tiene un efecto notable en los acoplamientos calculados entre átomos enlazados y a través del espacio. Se ha encontrado que el conjunto de bases 6-311++G(2df, 2pd) o IGLO-III junto al funcional B3LYP proporciona constantes de acoplamiento en buena concordancia con valores experimentales.^[200] Los errores restantes en el cálculo se atribuyen a la inexactitud del método B3LYP y a la falta de promedios dinámicos y anarmónicos.^[201] En concordancia con este hecho, se ha empleado un nivel de teoría ya probado por Marek y coautores^[33]. En las Tablas 4.4 y 4.5 se presentan resultados de cálculos a nivel de teoría B3LYP/6-311G(2df,2pd) para los pares AT y GC, respectivamente. Tal como se observa en esas tablas, los valores obtenidos son comparables a los valores experimentales. En el caso de $J(\text{N}_1\text{-H}_1)$ y $J(\text{N}_4\text{-H}_4)$ del par GC, los resultados teóricos encontrados por Fiala y coautores^[34] se aproximan mucho a los de esta tesis. La diferencia de signos entre valores calculados y experimentales, se debe al hecho que en ciertas ocasiones no se puede determinar el signo del valor de acoplamiento experimental.

En todos los casos, el mecanismo que más contribuye al acoplamiento total J es el FC. El mecanismo PSO resulta importante para $J(\text{N}_1\text{-C}_2)$ y $J(\text{N}_3\text{-C}_4)$ en el par AT.

Es interesante observar que el acoplamiento nitrógeno-nitrógeno, donador-aceptor $J(\text{N}_1\text{-N}_3)$, es del mismo rango tanto para AT como para GC: -4.2 Hz y -4.9 Hz, respectivamente. Sus valores no dependen del apilamiento de pares de bases.

Este último comportamiento se observa para todos los acoplamientos estudiados.

Sin embargo existe otra información de interés. El valor de $J(\text{N}_3\text{-H}_3)$ en timina se reduce levemente al comparar su valor en el par aislado y en el fragmento de tres y cinco pares. Por otro lado, el acoplamiento $J(\text{N}_6\text{-H}_6)$ de adenina se incrementa suavemente al pasar del par aislado al fragmento ATT, y luego desciende en el fragmento AATTC.

Al considerar los acoplamientos para el par GC, puede notarse un patrón de comportamiento similar al observado en AT. Tal es el caso de $J(\text{N}_1\text{-H}_1)$ y $J(\text{N}_4\text{-H}_4)$. Por otro lado, $J(\text{N}_2\text{-H}_2)$ incrementa su valor al considerar GC aislado y luego el fragmento de tres pares. A partir de allí ya no se observan incrementos. Por último, $J(\text{N}_1\text{-N}_3)$ y $J(\text{C}_6\text{-N}_1)$ también aumentan sus valores levemente con el apilamiento.

El acoplamiento a un enlace, $J(\text{N}_3\text{-H}_3)$, del enlace de hidrógeno en AT, varía de -92.6 Hz cuando se encuentra aislado a -92.1 Hz cuando el par pertenece a algún fragmento. No ocurre algo similar en el acoplamiento equivalente en el par GC.

4.5. Efectos de dispersión sobre σ y J

La influencia de las interacciones de apilamiento π sobre los parámetros espectroscópicos requiere la evaluación del desempeño de funcionales que incluyan correcciones por dispersión en la descripción de estos parámetros. Es por ello que se realizaron cálculos con el funcional B97 y su equivalente con inclusión de efectos de dispersión B97-D para los sistemas ricos en pares GC. Los resultados de apantallamientos se exhiben en las Tablas 4.6 y 4.7.

Tabla 4.6: Apantallamientos magnéticos en el par GC (en ppm) calculados a nivel B97//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G de teoría.

	Guanina						Citosina				
	N ₁	N ₂	C ₆	C ₂	H ₁	H ₂	N ₄	N ₃	C ₄	C ₂	H ₄
Aislado	98.55	174.44	21.91	24.50	18.37	22.09	144.12	37.37	12.00	26.98	19.96
GCG	95.47	164.43	21.82	22.71	18.37	22.06	143.04	38.30	12.29	27.53	20.60
CGCGA	95.71	164.54	21.97	23.00	18.69	22.42	143.80	37.87	12.49	27.79	20.81

Tabla 4.7: Apantallamientos magnéticos y corrimientos químicos en el par GC (en ppm) calculados a nivel B97-D//cc-pCVTZ/cc-pVTZ/6-31G de teoría.

	Guanina						Citosina				
	N ₁	N ₂	C ₆	C ₂	H ₁	H ₂	N ₄	N ₃	C ₄	C ₂	H ₄
Apantallamientos											
Aislado	97.03	170.92	24.41	26.96	18.49	22.12	140.34	36.87	15.09	28.98	19.99
GCG	93.72	160.90	24.22	25.21	18.46	22.06	139.35	37.71	15.46	29.56	20.62
CGCGA	93.97	160.97	24.38	25.50	18.77	22.41	140.04	37.32	15.65	29.80	20.81
Corrimiento Químico											
Aislado	170.78	103.6	163.88	162.89	12.38	8.78	125.15	226.79	172.64	158.54	10.22
GCG	167.47	93.58	163.69	161.14	12.35	8.72	124.16	227.63	173.01	159.13	10.85
Exp.	146-149	72-76	161	156	12-13.6	8-9	94-98	210	166-168	159	8.1-8.8

Puede observarse que los valores calculados con los funcionales B97 y B97-D son del mismo orden y las diferencias son menores al 5 %, excepto para los carbonos C₆ y C₂ de guanina y C₄ de citosina. A fin de determinar el desempeño del funcional B97-D, se lo comparó con el funcional KT3 respecto a valores experimentales por un lado (Fig. 4.2), y en términos del porcentaje de cambio en los valores de apantallamiento cuando se pasa del par GC aislado al fragmento GCG (puesto que como ya se dijo, es cuando se verifican los mayores cambios). Estos porcentajes se presentan en la Tabla 4.8. Los signos positivo y negativo indican si se produce un aumento o disminución

del apantallamiento, respectivamente. En este sentido ambos funcionales comparados siguen el mismo patrón de cambio. Por otra parte, aunque en general no se producen diferencias significativas entre estos valores, es preciso notar la tendencia hacia el incremento en los cambios de apantallamiento obtenidos con B97-D al pasar del par aislado al fragmento de tres pares. Esto podría indicar la necesidad de incluir estudios con este funcional con el fin de lograr mejores descripciones de los efectos de apilamiento.

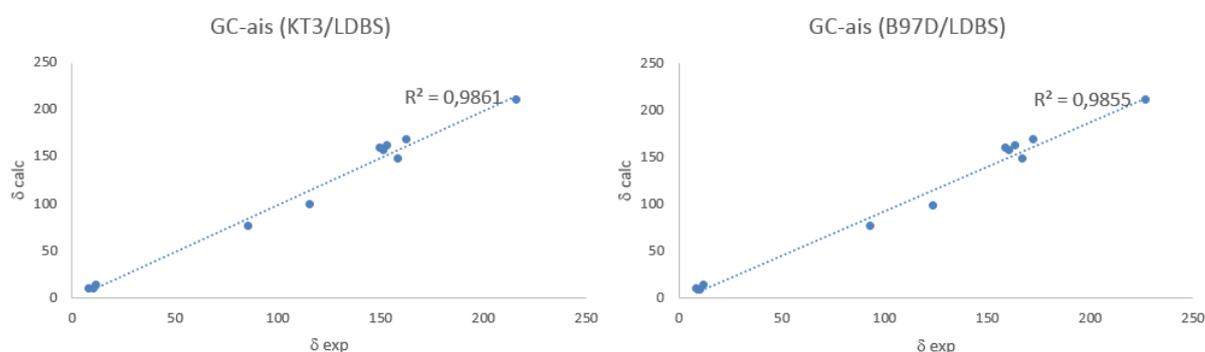


Figura 4.2: Comparación de valores experimentales y apantallamientos calculados con los funcionales KT3 y B97-D para el par GC-aislado.

Tabla 4.8: Porcentajes de cambio en los valores de apantallamiento magnético entre GC-aislado y GCG (en %) calculados con los funcionales KT3 y B97-D.

	Guanina						Citosina				
	N ₁	N ₂	C ₆	C ₂	H ₁	H ₂	N ₄	N ₃	C ₄	C ₂	H ₄
KT3	-2.78	-5.16	-0.12	-3.83	-0.11	-0.18	-0.39	+1.84	+2.16	+1.96	+3.17
B97-D	-3.41	-5.86	-0.78	-6.49	-0.16	-0.27	-0.71	+2.28	+2.45	+2.00	+3.15

En el caso de los acoplamientos J , los valores calculados con el funcional B97-D se presentan en la Tabla 4.9. Si bien existen diferencias entre estos valores y los calculados con B3LYP, puede corroborarse que siguen el mismo patrón de comportamiento

al considerar el par aislado y los fragmentos de tres y cinco pares. Además se puede verificar que B97-D se aleja de los valores experimentales a diferencia de B3LYP.

Tabla 4.9: Acoplamientos indirectos J (en Hz) para el par guanina-citosina a nivel B97-D/6-311G(2df,2pd) de teoría.

		FC	SD	PSO	DSO	Total	Exp.
Aislado	$J(\text{C}_6\text{-N}_1)$	-16.41	-0.17	2.76	-0.17	-13.98	
	$J(\text{N}_1\text{-H}_1)$	-72.51	-0.14	-1.14	-0.67	-74.46	
	$J(\text{N}_1\text{-N}_3)$	-4.18	-0.04	0.03	-0.01	-4.21	
	$J(\text{N}_2\text{-H}_2)$	-80.90	-0.20	-1.32	-0.46	-82.87	
	$J(\text{N}_4\text{-H}_4)$	-82.31	-0.27	-0.94	-0.45	-83.97	
GCG	$J(\text{C}_6\text{-N}_1)$	-16.48	-0.17	2.81	-0.21	-14.05	7.5
	$J(\text{N}_1\text{-H}_1)$	-72.61	-0.17	-0.90	-0.84	-74.51	90
	$J(\text{N}_1\text{-N}_3)$	-4.33	-0.04	0.04	-0.03	-4.36	5.5
	$J(\text{N}_2\text{-H}_2)$	-81.15	-0.22	-1.09	-0.60	-83.06	91
	$J(\text{N}_4\text{-H}_4)$	-82.23	-0.27	-0.83	-0.57	-83.91	86
CGCGA	$J(\text{C}_6\text{-N}_1)$	-16.55	-0.17	2.82	-0.21	-14.11	
	$J(\text{N}_1\text{-H}_1)$	-72.54	-0.17	-0.88	-0.86	-74.44	
	$J(\text{N}_1\text{-N}_3)$	-4.33	-0.04	0.04	-0.03	-4.36	
	$J(\text{N}_2\text{-H}_2)$	-81.12	-0.22	-1.08	-0.62	-83.03	
	$J(\text{N}_4\text{-H}_4)$	-82.20	-0.27	-0.81	-0.60	-83.88	

Capítulo 5

Efectos del solvente sobre propiedades magnéticas de fragmentos de ADN

El agua es un prerrequisito importante para la vida, y la mayoría de los procesos biológicos se producen en un ambiente acuoso.^[202] La estructura y la función de las biomoléculas están fuertemente influenciadas por sus capas de hidratación,^[20,203] en las que las interacciones más relevantes son las de los enlaces de hidrógeno.^[204] El solvente consiste en una red de moléculas de agua donde la disposición molecular es dinámica; fluctúa debido a la excitación térmica y los EH se rompen y se vuelven a formar en una escala de tiempo del orden de los picosegundos.^[205] La capa de moléculas de agua que rodea una molécula de ADN de cadena doble desempeña un papel esencial en:^[206,207]

- *Preservar la estructura del ADN.* Protege la delicada estructura de doble hélice de un exceso de calor, y proporciona una rápida y eficiente disipación de la energía resultante de, por ejemplo, la absorción de fotones UV antes de que estos rompan los enlaces de hidrógeno entre las bases de ADN.
- *Asegurar la función bioquímica apropiada del ADN.* En el procesamiento de la

información genética codificada en el ADN, y en las interacciones ADN-ligando.

Sin embargo, tales procesos requieren una reorganización de las moléculas de agua que rodean al ADN.

Según se discutió en el capítulo anterior, el apilamiento de pocos pares de bases de Watson-Crick por encima y por debajo de un par dado modifica sus parámetros espectroscópicos de RMN en una cantidad tal que es posible de ser observada experimentalmente (resultados de estudios en vacío).

En este capítulo se evaluarán los efectos del solvente y las interacciones no covalentes, como los enlaces de hidrógeno y el apilamiento π en la transmisión de propiedades magnéticas.

5.1. Modelos empleados

El sistema principal seleccionado para esta investigación es nuevamente la doble cadena del dodecámero de ADN de Dickerson-Drew CGCGAATTCGCG. Sin embargo, en esta oportunidad, las cadenas de fosfatos y azúcares se reemplazaron por grupos metilo a fin de simular de una manera más adecuada los efectos estéricos producidos por los grupos a los que reemplazan, además de continuar con el mismo criterio de reducción del costo computacional de los cálculos.

La representación explícita del solvente proporciona la descripción más detallada de las fuerzas de solvatación que actúan sobre solutos biomoleculares. Sin embargo, debido a que el número de moléculas de solvente debe ser lo suficientemente grande como para proporcionar al menos varias capas de solvatación, el uso de un solvente implícito puede ayudar a reproducir los efectos deseados con un menor costo computacional.

Para simular teóricamente los efectos de la hidratación se consideraron los tres procedimientos usuales: a) solvente explícito; b) solvente implícito (modelo del continuo polarizable, PCM) y c) solvente explícito e implícito.

El procedimiento del modelo continuo tiene una base teórica sólida, y es el más usado en la actualidad debido principalmente a su simplicidad y al menor tiempo de cálculo requerido. Sin embargo, los métodos discretos dan cuenta de los enlaces de hidrógeno explícitamente y por ello pueden ser más adecuados de utilizar. Por esta razón se adicionaron dos capas de moléculas de agua a la estructura del dodecámero. Seguidamente sus posiciones fueron optimizadas por medio de simulaciones de dinámica molecular a distintos tiempos, relajando además la estructura del dodecámero.

El fragmento elegido para llevar a cabo esta serie de estudios tiene la secuencia CGCGA (o 12345 según se detalló en el capítulo anterior). Dado que el interés está focalizado en un sólo par como prueba o testigo de lo que ocurre en un determinado fragmento, se eligió el par central identificado como par 3. Este par central es el mismo para las secuencias que contienen tres y cinco pares, ya que de hecho las secuencias más pequeñas (tres pares) se extraen del centro de los fragmentos de cinco pares. De este modo, la secuencia GCG se corresponde con los pares 234.

Se estudiaron luego las propiedades magnéticas del par central en tres sistemas diferentes para el fragmento CGCGA: a) cuando el par central se encuentra aislado; b) cuando el par central se encuentra en el centro de la secuencia de tres pares y c) cuando el par central se encuentra en el centro de cinco pares.

Con estas tres estructuras de base se confeccionaron los siguientes modelos, que dependen del modo en que se incluye el solvente, con el propósito de estudiar sus efectos sobre las variaciones de los apantallamientos magnéticos:

- **Vacío:** Sin moléculas de agua.
- **S-explicito:** Con la red de moléculas de agua correspondiente a dos capas de solvatación (60 moléculas de agua, manteniendo la misma red para uno, tres y cinco pares de bases), como se representa en la Figura 5.1.
- **S-PCM:** Con solvente implícito.

- **S-(explícito + PCM)**: Con la red de moléculas de agua correspondiente a las dos capas de solvatación (60 moléculas de agua, manteniendo la misma red para uno, tres y cinco pares de bases), combinado con la inclusión del solvente implícito.

En relación a los acoplamientos indirectos entre espines nucleares, se evaluaron dos tipos de acoplamientos: a) entre núcleos que pertenecen a una misma base o par de bases, y b) entre núcleos que pertenecen a dos pares consecutivos en el apilado dentro de un fragmento. En el primer caso, se tomó al par GC (par 2) como testigo de lo que ocurre al adicionar pares de bases por arriba y por debajo de él. En el segundo caso, se eligieron los núcleos de los pares GC y CG (pares 2 y 3), y el acoplamiento entre éstos como testigos del posible efecto debido al aumento del tamaño del sistema. En ambos casos se estudiaron tres modelos: en vacío, con solvente implícito (PCM) y con la red de moléculas de solvente (agua) explícito.

5.2. Detalles computacionales

En primer lugar, se optimizaron tanto la geometría del dodecámero como las posiciones de las moléculas de solvente utilizando simulaciones de dinámica molecular clásica, según distintos tiempos de simulación. Se escogió primeramente la estructura obtenida a 500 ps. Posteriormente se obtuvieron los distintos fragmentos de interés. Los cálculos de apantallamiento magnético se llevaron a cabo utilizando la teoría DFT, con el conjunto de bases gaussianas 6-311++G**^[208] que representa un compromiso entre la precisión y el costo computacional. Por tal motivo éste es el conjunto de bases seleccionado para todos los cálculos. Se empleó el funcional B97-D^[57], que incluye correcciones por efectos de dispersión. El cálculo con el modelo del continuo polarizable (PCM) de Tomasi se utilizó tal como se encuentra implementado en el paquete de programas Dalton2016. En el caso de los acoplamientos J , se utilizó el mismo nivel de teoría que el empleado en el capítulo anterior (B3LYP/6-311G(2df,2pd)).

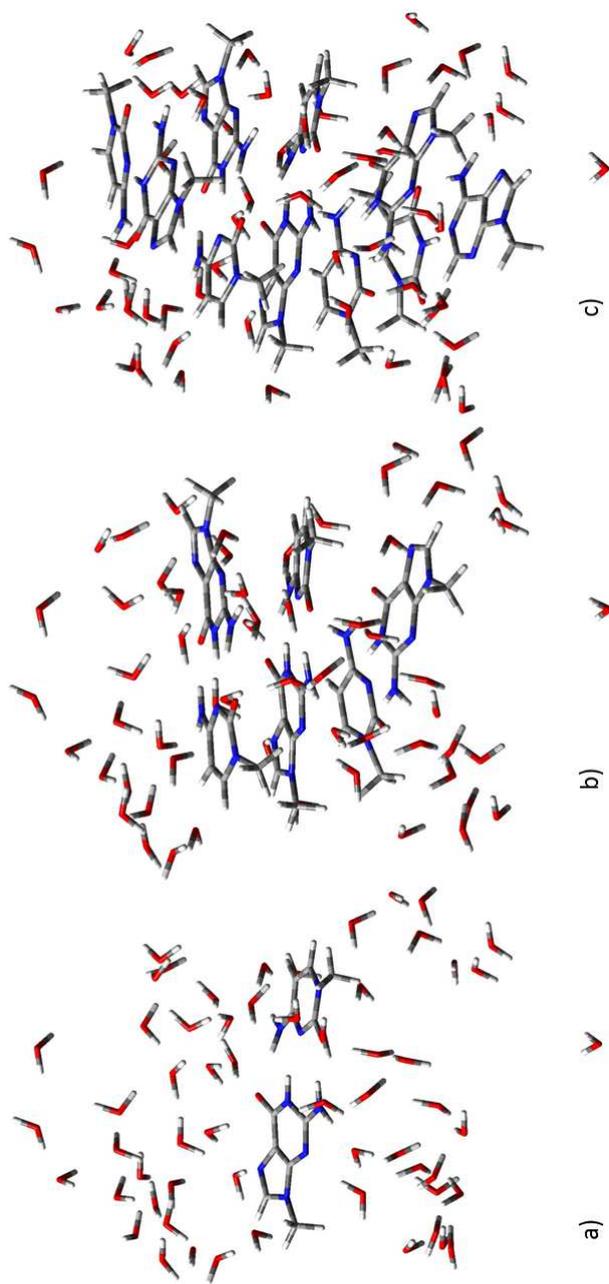


Figura 5.1: Sistemas de a) uno, b) tres y c) cinco pares de bases nitrogenadas, con moléculas de agua explícitas. Notar que la red de solvatación es la misma en los tres casos.

5.3. Apantallamientos magnéticos

Los apantallamientos de los núcleos de los átomos seleccionados pertenecientes al par GC se presentan en la Tabla 5.1. Allí se resumen los resultados obtenidos con cada uno de los modelos antes detallados, aplicados a los sistemas de uno, tres y cinco pares.

Es preciso tener en cuenta que el efecto puro del solvente se ve reflejado únicamente en el par GC-aislado, es decir, cuando se lo compara con el valor de apantallamiento de GC-aislado y en vacío. Los efectos del solvente y del apilamiento pueden hallarse combinados tanto en GCG como en CGCGA. Sin embargo, los valores de apantallamiento magnético en solvente pueden (o no) manifestar el mismo efecto del apilamiento que en vacío, y por lo tanto, seguir (o no) el mismo patrón de comportamiento. Si este patrón no se reproduce en presencia del solvente, es decir, se modifica el efecto provocado por el apilamiento, posiblemente sea evidencia de que el solvente también puede afectar alguna característica de la interacción de apilamiento. Como se puso de manifiesto en el capítulo anterior, el efecto puro del apilamiento se verá reflejado únicamente en los sistemas en vacío.

En términos generales, se pueden considerar los siguientes tres comportamientos:

a) No existe modificación de apantallamientos respecto del vacío. En este caso los valores en vacío y en presencia del solvente coinciden para GC-aislado, GCG y CGCGA.

b) Existe sólo efecto del solvente sobre los apantallamientos respecto del vacío, sin modificar el efecto que provoca el apilamiento. En este caso, existe diferencia entre los valores en vacío y en presencia del solvente, pero es la misma para GC-aislado, GCG y para CGCGA. Por lo tanto, los valores para los sistemas con solvente (aunque diferentes) siguen el mismo patrón de comportamiento de los sistemas en vacío.

c) La presencia del solvente modifica los apantallamientos respecto del vacío y también modifica el efecto que provoca el apilamiento. En este caso, existe diferencia entre los valores en vacío y en presencia del solvente. Sin embargo, los valores con

solvente no siguen el mismo patrón de comportamiento de los sistemas en vacío.

Para lograr una mejor comprensión de los efectos producidos por el solvente, y de esta manera poder realizar un análisis más sencillo, se graficaron los datos de la Tabla 5.1 en las Figuras 5.3, 5.4 y 5.5. La numeración de los átomos evaluados se menciona nuevamente en la Figura 5.2.

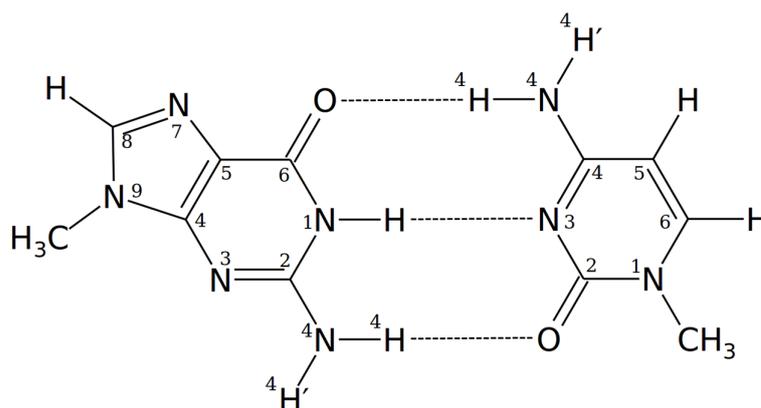


Figura 5.2: Estructura del par guanina-citosina.

5.3.1. Solvente explícito

En primer lugar, se analiza el comportamiento de los apantallamientos en el modelo con moléculas de agua incluidas de manera explícita (“Red-H₂O” en las figuras), siendo los parámetros de comparación los valores para los sistemas en vacío. A simple vista se observa que la presencia del solvente modifica los apantallamientos magnéticos en los tres sistemas estudiados respecto al vacío. Sin embargo, en líneas generales exhiben tendencias muy similares a este último al pasar de considerar el par GC aislado a los fragmentos GCG y CGCGA. Como excepciones a este patrón se encuentran los apantallamientos de los carbonos C₂ y C₆ de guanina (a partir de ahora identificados con la notación C₂-G y C₆-G, respectivamente) y el carbono C₂ de citosina (C₂-C).

Tabla 5.1: Apantallamientos magnéticos en el par GC (en ppm) calculados a nivel de teoría B97-D/6-311++G**

	Guanina						Citosina								
	N ₁	N ₂	C ₆	C ₂	H ₁	H ₂	H' ₂	O ₆	N ₄	N ₃	C ₄	C ₂	H ₄	H' ₄	O ₂
Vacío															
Aislado ^a	91.27	170.28	31.43	32.14	18.48	22.33	27.43	32.22	146.31	28.58	21.09	28.02	21.5	27.76	10.69
GCG ^b	88.58	161.93	31.63	30.83	18.12	21.91	27.00	10.05	147.19	31.53	17.53	28.12	22.05	28.28	11.65
CGCGA ^b	88.6	163.37	31.39	32.45	18.09	22.26	27.26	19.84	147.81	26.25	19.99	28.26	22.22	28.43	9.87
S-explicito															
Aislado	90.82	164.27	32.06	32.01	18.14	22.33	26.39	43.44	135.7	37.21	18.76	29.25	22.2	24.26	46.42
GCG	87.85	157.3	33.54	35.24	17.62	22.17	26.03	30.03	137.99	39.36	16.07	28.62	22.5	24.91	45.33
CGCGA	88.3	158.75	31.19	32.71	17.8	22.67	26.8	33.87	139.13	40.4	19.22	30.13	22.46	25.06	46.77
S-PCM															
Aislado	90.46	166.87	30.74	31.31	17.98	22.05			149.74	35.71	20.31	27.13	22.19		
GCG	89.18	162.89	31.21	31	17.98	21.91			148.58	34.42	17.12	27.55	22.41		
CGCGA	88.85	164.25	31.07	32.55	17.9	22.24			148.56	28.77	19.62	27.68	22.62		
S-(explicito + PCM)															
Aislado	89.58	162.56	31.56	31.25	17.82	22.12			140.77	39.18	18.08	28.78	22.58		
GCG	88.26	158.88	33.45	35.49	17.62	22.23			139.54	38.95	15.84	28.46	22.58		
CGCGA	88.87	160.46	31.4	33.86	17.85	22.69			139.19	39.73	18.77	29.92	22.37		

^aPar GC central aislado de las secuencias de tres pares (GCG) y de cinco pares (CGCGA).^bPar GC central inserto en las secuencias de tres y cinco pares de bases.

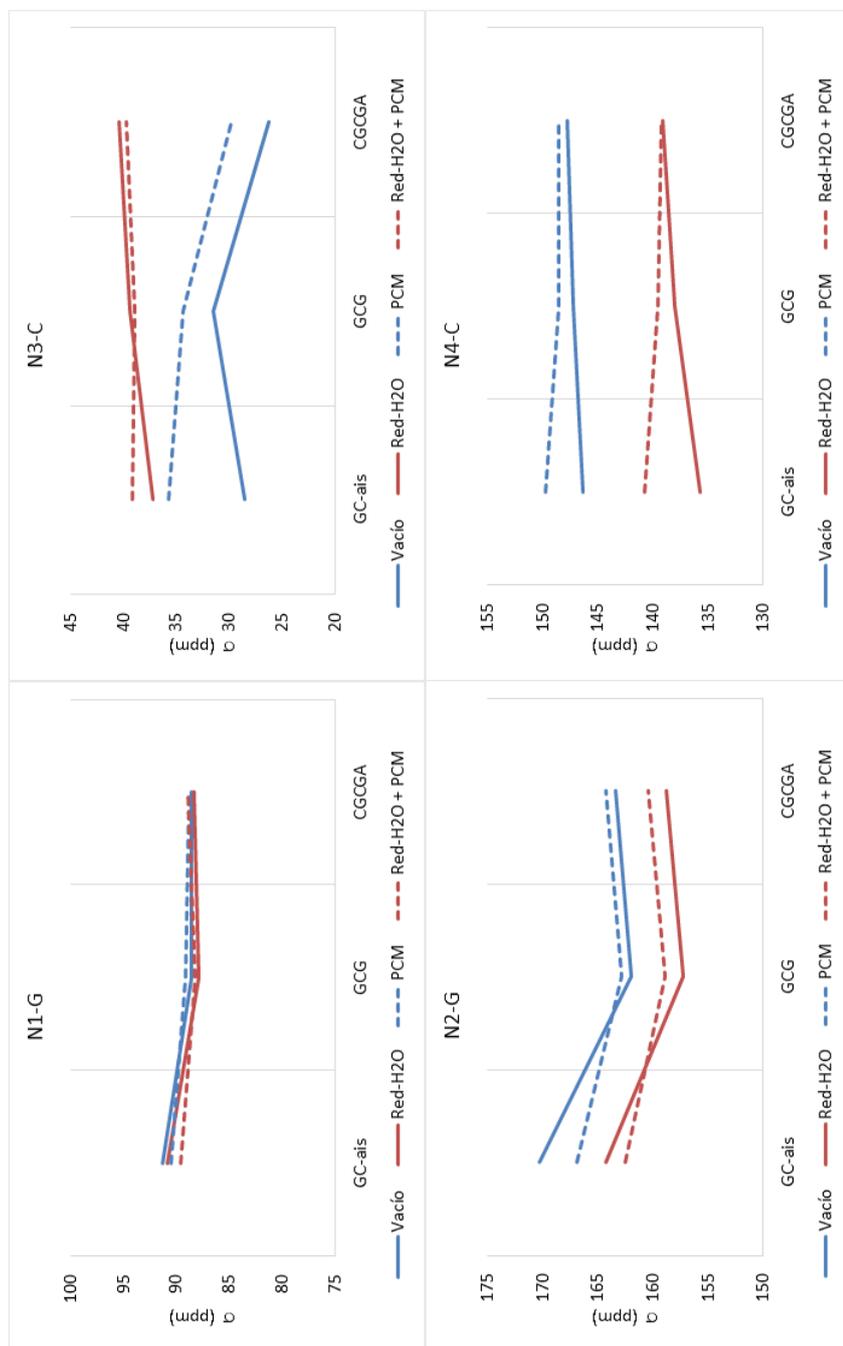


Figura 5.3: Patrones de comportamiento de los apantallamientos de nitrógeno en guanina y citosina: en vacío, con solvente explícito (Red-H₂O), con solvente implícito (PCM) y solvente explícito e implícito (Red-H₂O + PCM).

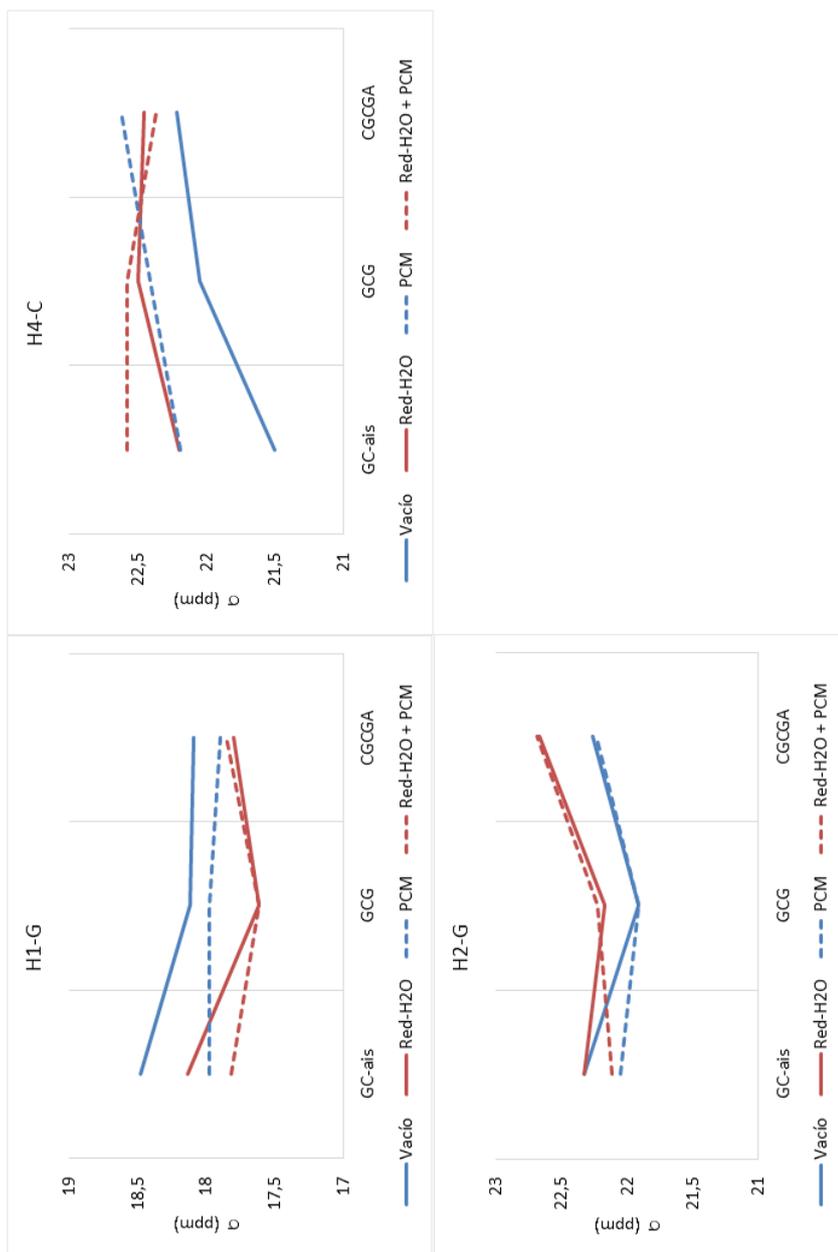


Figura 5.4: Patrones de comportamiento de los apantallamientos de hidrógeno en guanina y citosina: en vacío, con solvente explícito (Red-H₂O), con solvente implícito (PCM) y solvente explícito e implícito (Red-H₂O + PCM).

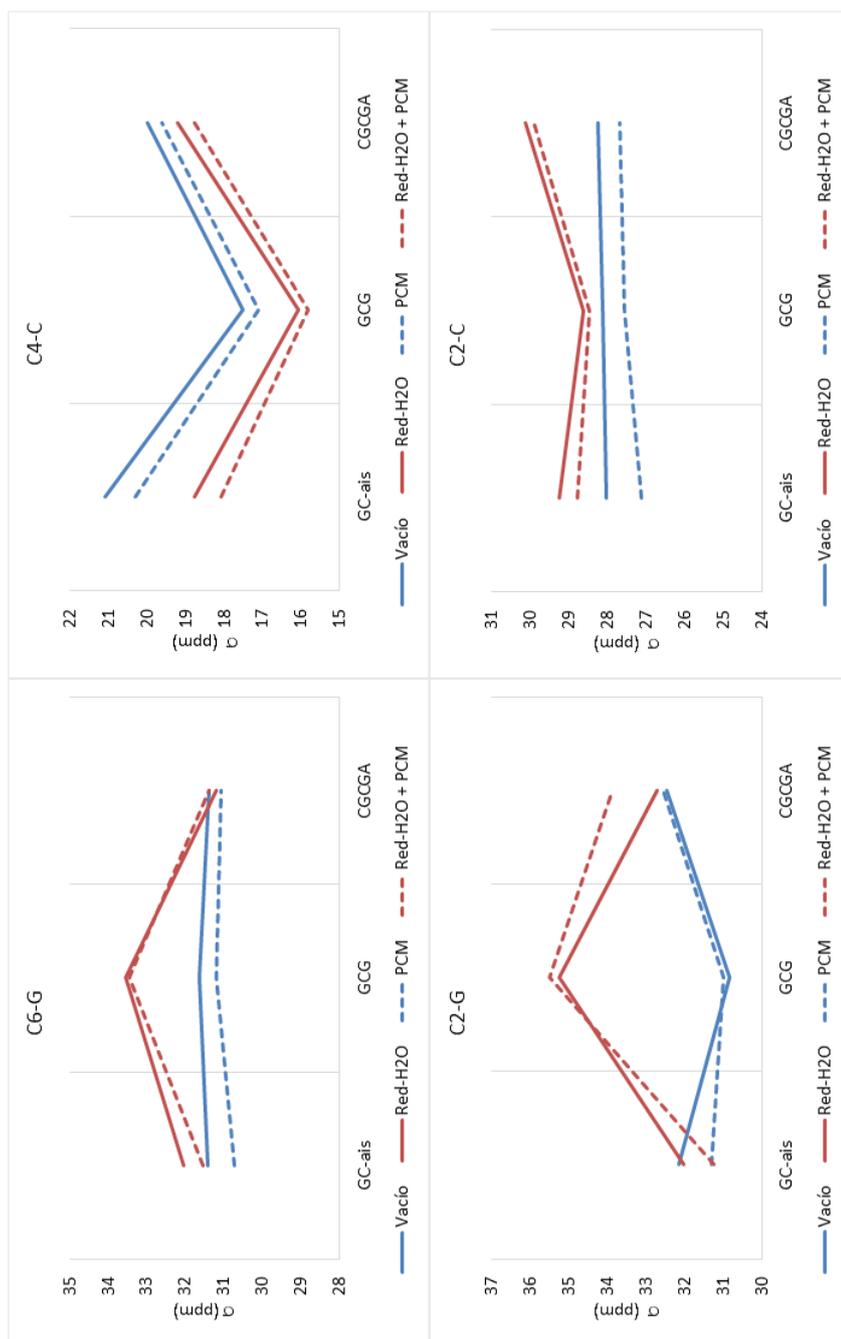


Figura 5.5: Patrones de comportamiento de los apantallamientos de carbono en guanina y citosina: en vacío, con solvente explícito (Red-H₂O), con solvente implícito (PCM) y solvente explícito e implícito (Red-H₂O + PCM).

El caso en el cual no existe efecto de solvente (menor al 1 %) en los tres sistemas corresponde evidentemente a N₁-G. También puede observarse esta situación para el apantallamiento en otros átomos, aunque no en los tres sistemas. Por ejemplo el apantallamiento para el átomo de hidrógeno H₂-G no se ve afectado por la presencia del solvente en GC-aislado. Del mismo modo ocurre con los átomos de carbono C₂-G y C₆-G. No obstante estos carbonos también exhiben este patrón en CGCGA, luego de experimentar un cambio de apantallamiento en el fragmento GCG. Claramente se observa que los comportamientos de los nitrógenos de guanina (N₁-G y N₂-G) son similares entre sí, y a la vez opuestos a los de citosina (N₃-C y N₄-C). Además, como ya se había observado, los apantallamientos de los átomos de hidrógeno exhiben las mismas tendencias de los nitrógenos a los cuales se hallan enlazados. Más allá de estas coincidencias, los hidrógenos que participan de interacciones por enlace de hidrógeno reflejan no sólo la influencia del solvente sobre sus apantallamientos respecto del vacío, sino también sobre las interacciones de apilamiento, puesto que los valores exhibidos no siguen el mismo patrón de comportamiento de los sistemas en vacío.

Otro efecto curioso se observa en los nitrógenos e hidrógenos más externos, y por tanto, más expuestos a las interacciones con moléculas de agua cercanas. Mientras los átomos de nitrógeno N₂-G y N₄-C se desapantallan con el solvente, los átomos de hidrógeno H₂-G y H₄-C unidos a ellos se encuentran más apantallados respecto del vacío.

Es preciso aclarar que en todos los casos, como puede observarse, el solvente modifica el efecto que produce la interacción de apilamiento, modificando los patrones que siguen los apantallamientos de los sistemas en vacío al sumar pares de bases por encima y por debajo del par testigo. Sin embargo, en ciertas ocasiones los porcentajes de variación son tan reducidos que permiten hacer la segunda generalización arriba mencionada y aseverar que sólo existe efecto del solvente sobre apantallamientos sin modificar el efecto del apilamiento sobre los apantallamientos. Son ejemplos de ello N₂-G, N₄-C y H₄-C, con porcentajes de desapantallamiento de -4 %, -7 % y -13 % respectivamente (aquí se emplearán signos positivos y negativos para indicar aumento

o disminución del apantallamiento).

Se analizan a continuación los casos en los que la presencia del solvente afecta la interacción de apilamiento. En cuanto a los nitrógenos, N₃-C exhibe un comportamiento diferente para los fragmentos GCG y CGCGA. En vacío, la disminución del apantallamiento en CGCGA representa el -8 % (-2.33 ppm respecto de GC-aislado), lo que, como ya se mencionó, corresponde sólo al efecto de apilado. Al considerar las moléculas de agua se evidencia un aumento de +9 % (+3.19 ppm). Sin embargo el efecto combinado tanto de solvente como de apilamiento da un total de +54 % (+14.15 ppm) de cambio del apantallamiento respecto del fragmento CGCGA en vacío (y de 41 % respecto a GC-aislado en vacío).

En los apantallamientos de los hidrógenos el solvente produce cambios de hasta un 12 %, como es el caso de H'₄-C. Este hidrógeno junto a H'₂-G (con un cambio de 4 %) representan los hidrógenos que más se ven afectados por la influencia de las moléculas de agua. Es preciso destacar otras características compartidas: a) ambos hidrógenos se ubican en las regiones más cercanas al solvente, y b) los valores de cambio antes reportados corresponden a desapantallamientos en el par GC-aislado.

Dado que en ambos casos la presencia del solvente ocasiona desapantallamiento, se puede tomar este hecho como indicio de la existencia de enlaces de hidrógeno entre estos hidrógenos y las moléculas de agua circundantes. El análisis de los efectos del apilamiento debe hacerse entre los fragmentos GC-aislado y GCG por un lado, y entre los fragmentos GCG y CGCGA por otro. En el primer tramo, para H₁-G, H₂-G y H₄-C en el fragmento GCG se produce una variación de -2 %, -2 % y +3 % en vacío; y de -3, -0.7 y +1 % con solvente, respectivamente. Esto representa un aumento del efecto de apilado de 1.21 % para H₄-C. Los efectos combinados totalizan 3 %, 1 % y 2 %. Para el segundo tramo, H₁-G y H₄-C con solvente tienden a disminuir las diferencias de apantallamiento respecto al vacío. Aún así, se observan variaciones sobre el efecto que genera el apilamiento. Por el contrario H₂-G tiende a alejarse del valor que presenta en el fragmento CGCGA en vacío (+2 % con solvente).

En general, se observa similitud en el comportamiento de carbonos en presencia

de solvente cuando pertenecen a una misma base. En guanina el efecto combinado del solvente y del apilamiento se puede observar en el apantallamiento de los carbonos C₂-G y C₆-G en el fragmento GCG. Las variaciones en conjunto suman 14 % y 6 % en cada caso. El porcentaje de cambio tan elevado del apantallamiento del carbono C₂-G en este fragmento se debe básicamente a que, mientras en vacío el apilamiento produce disminución de los valores de los apantallamientos, con solvente este efecto se invierte. Además del cambio de tendencia, el efecto del apilamiento se potenció en 6 % para C₂-G. En C₆-G el solvente produce incremento del efecto del apilamiento de 4 %. En citosina, C₄-C experimenta el mayor cambio en el par GC-aislado (11 %), con una diferencia en el efecto del apilamiento de 2 % en el fragmento GCG y 5 % en el fragmento CGCGA respecto al vacío. En el caso de C₂-C, la variación del efecto de apilamiento es de 2 % en GCG (siendo el sentido de cambio opuesto al vacío) y de 2 % en CGCGA (lo que representa un incremento del efecto del apilamiento), alcanzando los efectos combinados un aumento de apantallamiento de 7 % en este último caso.

Los átomos de oxígeno, por su mayor cercanía a las moléculas de agua (y por lo tanto a interacciones por enlaces de hidrógeno con ellas), experimentan grandes cambios en sus valores de apantallamiento. En ambos casos analizados, se encuentran más apantallados en los sistemas hidratados. Para O₂-C las diferencias son de hasta 373 % (o 36.9 ppm) en CGCGA respecto al vacío. Por su parte en O₆-G la diferencia alcanza un 198 % (o 20 ppm) en el fragmento GCG. Sólo este último se ve afectado por el apilamiento. En el primer tramo (es decir, entre GC-aislado y el fragmento GCG), las variaciones de apantallamiento son 68 % en vacío y 31 % con solvente (38 % de diferencia en el efecto de apilamiento). En el segundo tramo (entre GCG y CGCGA), los apantallamientos varían 38 % en vacío y 22 % con solvente (16 % de diferencia en el efecto de apilamiento).

5.3.2. Solvente implícito

Los valores de los apantallamientos para los sistemas GC-aislado, GCG y CGCGA usando el modelo de solvente implícito, están representados por “PCM” y “Red-H₂O

+ PCM” en las Figuras 5.3, 5.4 y 5.5. Empleando únicamente el modelo de solvente implícito, se esperaría que el comportamiento de los apantallamientos reproduzca lo exhibido por la presencia de moléculas de agua explícitas. Sin embargo, esto no ocurre. En general, sigue las conductas de los sistemas en vacío, principalmente entre los fragmentos GCG y CGCGA, y sus valores difieren muy poco de éstos.

Otro comportamiento generalizado es el siguiente: mientras en presencia de solvente explícito se producen cambios en un sentido (desapantallamiento, por ejemplo), la presencia de solvente implícito PCM introduce cambios en el sentido opuesto (es decir, hacia valores más apantallados). Son ejemplo de ello: N₂-G, N₄-C, C₂-G, C₂-C y C₆-G. Un efecto fácilmente observable, es el que tiene que ver con la mayor diferencia que existe respecto de los valores en vacío para el par GC-aislado. Esta diferencia se debe a que PCM modela al solvente como si fuera una distribución de carga aparente en la superficie de una cavidad en la que se ubica al sistema de interés. Por lo tanto en este caso el par GC-aislado se halla completamente “rodeado del solvente”. La presencia de esta distribución de carga por encima y por debajo del par aislado es la responsable de la diferencias mencionadas. Es necesario destacar que la presencia del solvente simulado por encima y debajo de los sistemas estudiados también alcanza a los fragmentos GCG y CGCGA. No obstante, sus efectos se ven poco reflejados en los valores de apantallamiento dado que el par central (sobre el cual se efectúan las determinaciones de apantallamiento) queda aislado de su influencia.

El modelado del solvente a partir del uso combinado de moléculas explícitas y solvente implícito (Red-H₂O + PCM, en las figuras), es el más adecuado, pues tiene en cuenta al mismo tiempo las interacciones producidas entre el sistema de interés y las moléculas de agua (como enlaces de hidrógeno), y las ventajas ofrecidas por un modelo de solvente continuo. De las Figuras 5.3, 5.4 y 5.5 se desprende que este modelo no aporta diferencias apreciables al correspondiente con solvente explícito, principalmente entre los fragmentos GCG y CGCGA. Del mismo modo que en el caso del modelo implícito, los valores de apantallamientos difieren mayormente respecto de aquellos con solvente explícito en el par GC-aislado. Las razones para esta conducta

son las mismas que las explicadas para el modelo implícito. Es preciso recordar que el modelo del solvente explícito consiste en una red cilíndrica de moléculas de agua, la cual se conserva en los tres sistemas: GC-aislado, GCG y CGCGA. Al modelar los dos tipos de solvente que actúan de manera conjunta, se procede a ubicar a cada uno de los sistemas junto a la red de moléculas de agua en la cavidad del solvente simulado por PCM. Sin embargo, cuando se trata del par GC-aislado junto a la red de moléculas de agua, se producen dos cavidades, en la que una de ellas corresponde a la parte del cilindro con moléculas de agua que no es ocupado por los otros pares, como sí ocurre con GCG (en el cual también se produce una segunda cavidad) y CGCGA. Por lo tanto, PCM simula el solvente también por encima y por debajo de los pares (lo que no ocurre con el solvente explícito), aunque el efecto es más marcado en el par GC-aislado.

Otro aspecto a tener en cuenta es que el uso combinado de solvente explícito e implícito representa un incremento de alrededor del 25 % en los tiempos de cálculo respecto al uso del modelo explícito, cuando se lo evalúa para el fragmento CGCGA.

5.4. Acoplamientos indirectos entre núcleos de átomos de un mismo par

Se estudiaron los acoplamientos indirectos entre espines nucleares que pertenecen al mismo par guanina-citosina. En esta oportunidad se tomó al par 2 como testigo de lo que ocurre con el apilamiento, usando los modelos PCM y de solvente explícito. Debido a que los sistemas se complejizan en dos sentidos, primero cambiando el entorno con el solvente y luego con el número de pares de bases considerado, el análisis se desarrolla según esos dos aspectos. En la Tabla 5.2 se presentan los valores calculados según esas dos variantes. Para este estudio se utilizó un procedimiento diferente al empleado en el capítulo 4, en lo que refiere a la secuencia de agregado de pares por encima y por debajo del par testigo. Por simplicidad, los pares incluidos en cada sistema se encuentran numerados en la Tabla 5.2.

Del mismo modo que en el capítulo anterior, los núcleos evaluados en vacío no exhiben cambios apreciables en sus acoplamientos al aumentar el número de pares de bases apiladas (las diferencias rondan el 1 % en algunos casos). Frente al solvente implícito, sólo $J(N_1-C_2)$ experimenta incrementos de valor en todos los sistemas (alrededor de +4 %). El resto de los acoplamientos exhibe reducciones en sus valores. $^hJ(N_1-N_3)$ para el sistema 2-3, por ejemplo, alcanza un -5 %. Al evaluar el efecto sobre el apilado de bases, es preciso hacer notar dos series de valores, según se agregue o no el par 1. Si bien los cambios son poco significativos, se puede percibir una tendencia hacia la reducción del valor de los acoplamientos en función del aumento de pares.

Sin duda los resultados más interesantes surgen al estudiar los acoplamientos para fragmentos con solvente explícito. Respecto al vacío, se pueden encontrar diferencias que superan el -7 %, como ocurre con $J(H_1-N_3)$ y $J(C_2-N_2)$ para los sistemas 2-3 y 2-3-4. Para 1-2-3, $J(H_1-N_3)$ varía en un -5 %, mientras que $J(C_2-N_2)$ varía un -8 %. En 1-2-3-4-5 (CGCGA) $J(H_1-N_3)$ varía un +25 % (casi 1 Hz de diferencia) y $J(N_1-C_2)$ supera el +39 % (4.85 Hz de diferencia). Los valores de los acoplamientos correspondientes a los sistemas 2-3-4-5 y 1-2-3-4 arrojaron valores anormalmente elevados, debido probablemente a inestabilidades que pueden surgir en este tipo de cálculos, y por esa razón no fueron considerados. El análisis del apilamiento de bases revela que la presencia del solvente potencia su efecto sobre los acoplamientos. De la comparación de los acoplamientos para el par 2 aislado con respecto a los acoplamientos cuando el sistema está compuesto por cinco pares de bases, surgen porcentajes de cambio que alcanzan el +30 % para $J(H_1-N_3)$ (1.13 Hz de diferencia), +39 % para $J(N_1-C_2)$ (4.78 Hz de diferencia) y +5 % para $J(C_2-N_2)$. Al sumar un par más (par 6), el sistema 1-2-3-4-5-6 presenta valores que se asemejan a los del par 2 aislado.

Tabla 5.2: Acoplamientos indirectos J (en Hz) en el par GC (par 2) calculados a nivel de teoría B3LYP/6-311G(2df,2pd).

Pares	En vacío				PCM				Con red de solvente						
	$J(N_1-H_1)$	${}^hJ(N_1-N_3)$	$J(H_1-N_3)$	$J(N_1-C_2)$	$J(C_2-N_2)$	$J(N_1-H_1)$	${}^hJ(N_1-N_3)$	$J(H_1-N_3)$	$J(N_1-C_2)$	$J(C_2-N_2)$	$J(N_1-H_1)$	${}^hJ(N_1-N_3)$	$J(H_1-N_3)$	$J(N_1-C_2)$	$J(C_2-N_2)$
2	-75.30	5.58	3.90	-12.02	-29.68	-74.83	5.82	3.84	-12.41	-29.41	-75.52	5.98	3.72	-12.21	-27.38
2-3	-75.29	5.58	3.91	-11.98	-29.72	-74.85	5.80	3.85	-12.44	-29.42	-75.49	5.99	3.74	-12.26	-27.4
2-3-4	-75.14	5.51	3.97	-12.08	-29.85	-74.83	5.79	3.85	-12.46	-29.44	-75.32	5.92	3.79	-12.37	-27.52
2-3-4-5	-75.14	5.51	3.96	-12.09	-29.86	-74.83	5.79	3.85	-12.47	-29.44	-	-	-	-	-
1-2-3	-74.82	5.50	3.90	-12.05	-29.60	-74.52	5.75	3.81	-12.45	-29.25	-75.12	6.06	3.70	-12.38	-27.15
1-2-3-4	-74.88	5.65	3.87	-12.14	-29.41	-74.50	5.77	3.84	-12.46	-29.27	-	-	-	-	-
1-2-3-4-5	-74.88	5.64	3.88	-12.14	-29.43	-74.48	5.77	3.85	-12.45	-29.28	-74.6	6.18	4.85	-16.99	-28.78
1-2-3-4-5-6	-74.89	5.65	3.88	-12.12	-29.41	-	-	-	-	-	-74.99	6.02	3.73	-12.46	-27.25

5.5. Acoplamientos indirectos entre núcleos de átomos de pares apilados

Como era de esperar, los valores de J para este tipo de estudios son muy pequeños pues se trata de acoplamientos a través del espacio entre espines nucleares (*through-space indirect spin-spin couplings*) separados por distancias mayores a 3 Å. Es decir, los núcleos no están unidos por enlaces covalentes o interacciones no covalentes como el enlace de hidrógeno. Por lo tanto aquí se evalúa el acoplamiento a través de las interacciones de apilamiento, y cómo afecta a sus valores la presencia del solvente. En la Tabla 5.3 se presentan los resultados de los cálculos realizados.

En vacío sólo puede evaluarse la influencia del apilamiento sobre los valores de acoplamiento. Si bien los valores absolutos son pequeños, las magnitudes de los cambios producidos son muy significativos. $J(N_1-N'_3)$, sólo con la adición del par cuatro (es decir, en 2-3-4) ya experimenta un incremento de +6%; y la diferencia llega hasta -8% en 1-2-3-4. Para el acoplamiento $J(C_2-C'_2)$ en 2-3-4, se observa una diferencia respecto del valor del acoplamiento en 2-3 de +17% (0.01 Hz de diferencia), pudiendo superar el +21% en 1-2-3-4-5 (0.02 Hz de diferencia). Por su parte $J(N_2-O'_2)$, alcanza una variación de -9% en 1-2-3, que luego se reduce a -9% en 1-2-3-4-5. Es muy llamativo el comportamiento de $J(H_1-H'_1)$, pues el aumento progresivo del número de pares de bases en los sistemas provoca el aumento progresivo de los acoplamientos, lo que en términos porcentuales representa un +6% en 2-3-4 y hasta +15% en 1-2-3-4-5 (0.06 Hz de diferencia). Es de destacar la gran influencia que tiene el par 1 en los cambios que se producen, ya que mientras 2-3-4 manifiesta una variación del acoplamiento de +6%, 1-2-3 produce una variación del +11% (o 0.04 Hz), es decir, el doble de la primera. Del mismo modo ocurre con los fragmentos 2-3-4-5 (+7%) y 1-2-3-4 (0.06 Hz o +14% de diferencia), teniendo ambos sistemas cuatro pares de bases.

Tabla 5.3: Acoplamientos indirectos J (en Hz) entre los pares GC y CG (pares 2 y 3) calculados a nivel de teoría B3LYP/6-311G(2df,2pd).

Pares	En vacío			PCM			Con red de solvente					
	$J(N_1-N_3)^a$	$J(C_2-C'_2)$	$J(N_2-O'_2)$	$J(H_1-H'_1)^b$	$J(N_1-N'_3)$	$J(C_2-C'_2)$	$J(N_2-O'_2)$	$J(H_1-H'_1)$	$J(N_1-N'_3)$	$J(C_2-C'_2)$	$J(N_2-O'_2)$	$J(H_1-H'_1)$
2-3	0.08	0.08	0.27	0.40	0.08	0.08	0.28	0.40	0.08	0.10	0.23	0.44
2-3-4	0.09	0.10	0.26	0.42	0.09	0.10	0.27	0.42	0.07	0.09	0.24	0.46
2-3-4-5	0.08	0.09	0.27	0.43	0.08	0.09	0.28	0.43	-	-	-	0.46
1-2-3	0.08	0.09	0.25	0.44	0.08	0.09	0.26	0.44	0.08	0.10	0.23	0.47
1-2-3-4	0.08	0.09	0.25	0.45	0.08	0.09	0.26	0.45	-	-	-	-
1-2-3-4-5	0.08	0.10	0.25	0.46	0.08	0.10	0.26	0.46	-	-	-	-

^a El primer átomo corresponde a la guanina del par 2, y el segundo (incluyendo el apóstrofe, por ej. N') a citosina del par

3. ^b Ambos hidrógenos corresponden a la guanina, pero el primero pertenece al par 2 y el segundo al par 3.

Cuando se utiliza el modelo PCM de solvente, los valores de acoplamientos experimentan leves incrementos en general con variaciones que pueden rondar el +4 % (por ejemplo para $J(N_2-O'_2)$). Sin embargo, al evaluar su influencia sobre el efecto de apilamiento puede apreciarse una pequeña reducción de los porcentajes de variación respecto a los valores en vacío. No obstante, en términos generales se sostienen los mismos patrones; particularmente en el acoplamiento $J(H_1-H'_1)$.

Por las razones arriba mencionadas, no se incluyeron en la Tabla 5.3 los valores de acoplamientos correspondientes a los sistemas 1-2-3-4 y 1-2-3-4-5 para el modelo de solvente explícito. Comparados con sus valores en vacío, los acoplamientos en presencia del solvente explícito, de manera generalizada, presentan incrementos para $J(C_2-C'_2)$ y $J(H_1-H'_1)$, y reducciones para $J(N_1-N'_3)$ y $J(N_2-O'_2)$. El acoplamiento $J(C_2-C'_2)$ para los pares 2 y 3 (sistema 2-3) sufre un incremento de +18 % (o 0.02 Hz), y $J(H_1-H'_1)$ de +10 % (o 0.04 Hz). Por su lado $J(N_2-O'_2)$ se reduce -13 % (o 0.04 Hz). En 2-3-4, el acoplamiento $J(N_1-N'_3)$ se reduce -18 % (o 0.02 Hz). En cuanto al efecto de apilamiento, solamente puede analizarse lo que sucede con los sistemas 2-3-4 y 1-2-3. Con la excepción de $J(N_1-N'_3)$ para 2-3-4, el resto de los valores del acoplamiento J manifiestan reducciones debidas al efecto de apilamiento (comparados con los apilamientos que se daban en vacío). Por ejemplo, $J(C_2-C'_2)$ en 2-3-4 mostraba una variación del acoplamiento de +17 % en vacío; sin embargo, con solvente explícito la variación se reduce a -5 %. La diferencia en los signos hace referencia a que, mientras en el primer caso se produce el aumento del acoplamiento, en el segundo se da la reducción al pasar del sistema 2-3 al 2-3-4.

Entonces se puede afirmar la existencia de los acoplamientos indirectos entre núcleos que pertenecen a dos pares de bases que se encuentran bajo la influencia de una interacción de apilamiento π . Además, el efecto de esta interacción puede experimentar variaciones debidas a la adición de pares de bases nitrogenadas por encima y por debajo del par elegido como testigo, y en este sentido, los acoplamientos J demuestran ser sensibles a estas variaciones.

Por otro lado, la presencia del solvente explícito también produce cambios que

pueden verse reflejados en los valores de acoplamiento, no sólo para cada sistema en particular (es decir, al comparar, por ejemplo, el sistema 2-3 en vacío y 2-3 con solvente) sino también entre sistemas que se encuentran ya sea en vacío o con solvente. De esta manera, el solvente ejerce una influencia que puede ser observable sobre el efecto de apilamiento.

En una investigación muy reciente con otro tipo de compuestos en vacío, Malkina y colaboradores^[209] confirmaron la existencia de acoplamiento entre hidrógenos a través del espacio (separados por una distancia de 2.68 Å) de forma teórica y experimental. En sus cálculos se empleó un nivel de teoría DFT B3LYP/IGLO-III, obteniendo un valor para $J(\text{H-H}') = 0.62 \text{ Hz}$, valor muy cercano al experimental para las especies estudiadas.

Conclusiones y perspectivas

Los desarrollos recientes sobre el modelado de moléculas de tamaño mediano con alta precisión, hacen a que se puedan encarar nuevos estudios que permitan ampliar el conocimiento sobre propiedades magnéticas en fragmentos moleculares de ADN.

En el marco de esta tesis doctoral se estudiaron las posibles influencias del apilado sobre las propiedades magnéticas de los átomos que pertenecen a pares de bases en un fragmento de ADN tanto en vacío como en presencia de moléculas de agua como solvente. Por esta razón, se centraron los estudios en los parámetros espectroscópicos de la RMN de dichos pares de bases, dado que estos parámetros son muy sensibles a los efectos electrónicos del medio ambiente y, al mismo tiempo, suelen ser de naturaleza local.

Los fragmentos de moléculas de ADN estudiados son más ricos en pares de AT o GC. Demostramos que hay algunos núcleos que pertenecen a esos fragmentos de ADN cuyas propiedades magnéticas pueden usarse como una sonda confiable de posibles nuevos efectos electrónicos. Estos efectos tienen entre sus fuentes, tanto los enlaces de hidrógeno como las interacciones de apilamiento, además de la disposición geométrica de todos los pares de bases en el fragmento. Se analizó cuán importante es el efecto de acumular varios pares de bases por encima y por debajo de un par central, tomándolo a éste como testigo y usando sus átomos como receptores de la influencia magnética del ambiente. Esas interacciones modifican los parámetros espectroscópicos de RMN en una cantidad pequeña pero no despreciable, por lo que son factibles de ser observadas mediante RMN de alta precisión.

En todos los casos estudiados sin ningún tipo de solvente (vacío) se encontró

que los apantallamientos magnéticos son más sensibles que los acoplamientos J a los cambios en la vecindad del par de bases central. Se encontró un patrón claro para los apantallamientos: a) los átomos equivalentes en cualquiera de los monómeros similares (digamos timina y citosina) tienen valores equivalentes de apantallamientos cuando están apareados (AT y GC, respectivamente), y el patrón de variaciones también es similar; b) el apantallamiento de los hidrógenos es más sensible al apilamiento que los átomos distintos de hidrógeno, lo que significa que varían un porcentaje que puede ser del orden del 5% cuando se pasa de un fragmento de tres pares a un fragmento con cinco pares.

Un hallazgo interesante tiene que ver con la importancia de la influencia del apilamiento en los apantallamientos magnéticos de la RMN de nitrógenos que son donadores en EH y los carbonos que están unidos a ellos. Se encontró que el apantallamiento de esos átomos varía entre el 2% y el 5% cuando se consideran en el par aislado y luego, cuando pertenecen a algunos de los fragmentos. Si se comparan los apantallamientos de esos átomos de nitrógeno cuando pertenecen a algunos de los dos fragmentos (que contienen tres o cinco pares), no se observa esa diferencia. Este hecho respalda la hipótesis de que el apilamiento sí afecta el apantallamiento de nitrógenos que son donadores de EH y al apantallamiento de los carbonos unidos a ellos.

Otro hallazgo importante de estos estudios fue el hecho de que, para el conjunto de átomos estudiados (se puede considerar que representan a todos los demás en timina) y para ambos parámetros espectroscópicos de RMN, el conjunto de bases cc-pVTZ no es lo suficientemente adecuado para la reproducción de efectos magnéticos pequeños en fragmentos de ADN. Se debe usar un conjunto de bases más grande (más adecuado) si se quieren obtener propiedades magnéticas precisas y confiables.

Por otro lado, se encontró una relación entre la proporción de desapantallamiento del átomo de hidrógeno que se produce en la formación de los pares AT y GC, y la fortaleza relativa del EH en el que participa. Esta relación puede ser de utilidad en los casos en que se establecen varios enlaces de hidrógeno entre dos monómeros,

permitiendo definir un orden de éstos en función de su fortaleza relativa.

Con el objeto de evaluar con mayor profundidad la manera en que las condiciones del medio afectan a los parámetros espectroscópicos, se estudiaron las propiedades magnéticas arriba mencionadas para fragmentos de ADN en presencia de un solvente. El análisis realizado no sólo incluye el estudio de los efectos debidos a la simple adición del solvente, sino también los efectos conjuntos que incluyen los asociados al apilamiento de pares de bases. El solvente elegido en este trabajo fue el agua y su inclusión se puso en práctica mediante tres modelos: de manera explícita, de manera implícita empleando el modelo PCM y de manera mixta, siendo esta última la combinación del modelo explícito y el modelo implícito.

Para los apantallamientos magnéticos de los átomos de los fragmentos embebidos en solvente explícito, se pueden encontrar tres comportamientos generales de las especies analizadas:

a) No existe modificación de apantallamientos respecto del vacío. En este caso los valores en vacío y en presencia del solvente coinciden para GC-aislado, GCG y CGCGA.

b) Existe sólo efecto del solvente sobre los apantallamientos respecto del vacío, sin modificar el efecto que provoca el apilamiento. En este caso, existe diferencia entre los valores en vacío y en presencia del solvente, pero es la misma para GC-aislado, GCG y para CGCGA. Por lo tanto, los valores para los sistemas con solvente (aunque diferentes) siguen el mismo patrón de comportamiento de los sistemas en vacío.

c) La presencia del solvente modifica los apantallamientos respecto del vacío y también modifica el efecto que provoca el apilamiento. En este caso, existe diferencia entre los valores en vacío y aquellos en presencia del solvente. Sin embargo, los valores de los apantallamientos cuando existe solvente no siguen el mismo patrón de comportamiento que aquellos obtenidos cuando no se incluye al solvente.

De todos estos comportamientos posibles, el c) es el que aporta los datos más interesantes. Por ejemplo, para el nitrógeno N_3-C el efecto combinado tanto del solvente como del apilamiento da un total de +54 % (+14.15 ppm) de cambio del apantalla-

miento respecto del fragmento CGCGA en vacío (y 41 % respecto a GC-aislado en vacío). Para los carbonos C₂-G y C₆-G en el fragmento GCG, las variaciones en conjunto suman 14 % y 6 % en cada caso, lo que representa un incremento del efecto de apilamiento de 6 % y de 4 % respectivamente. En citosina, para el carbono C₂-C, la variación del efecto de apilamiento es de 2 % en CGCGA (lo que representa un incremento del efecto del apilamiento), alcanzando los efectos combinados un aumento de apantallamiento de 7 %. Los oxígenos, por su mayor cercanía a las moléculas de agua (y por lo tanto a interacciones por enlaces de hidrógeno con ellas), experimentan grandes cambios en sus valores de apantallamiento. En ambos casos analizados, se encuentran más apantallados en los sistemas hidratados. Sólo el oxígeno O₆-G se ve afectado por el apilamiento. En el primer tramo (es decir, entre GC-aislado y el fragmento GCG), las variaciones de apantallamiento son de 69 % en vacío y de 31 % con solvente (38 % de diferencia en el efecto de apilamiento). En el segundo tramo (entre GCG y CGCGA), los apantallamientos varían 38 % en vacío y 22 % con solvente (16 % de diferencia en el efecto de apilamiento).

Mediante el empleo del modelo de solvente implícito PCM, podría esperarse que el comportamiento de los apantallamientos reproduzca lo exhibido por la presencia explícita de moléculas de agua. Sin embargo, esto no ocurre. En general, el comportamiento de los apantallamientos sigue las conductas de los sistemas en vacío, principalmente entre los fragmentos GCG y CGCGA, y sus valores difieren muy poco de éstos. Por su parte, el modelo de solvente que hace uso de moléculas de agua explícitas y de solvente implícito es el más adecuado, pues tiene en cuenta al mismo tiempo las interacciones producidas entre el sistema de interés y las moléculas de agua (como enlaces de hidrógeno), y las ventajas ofrecidas por un modelo de solvente continuo. Sin embargo, de los estudios realizados se desprende que este modelo no aporta diferencias apreciables al correspondiente con solvente explícito, principalmente entre los fragmentos GCG y CGCGA, aunque representa un incremento de alrededor del 25 % en los tiempos de cálculo respecto al uso del modelo explícito, cuando se lo evalúa para el fragmento CGCGA.

Se estudiaron las conductas de los acoplamientos indirectos entre espines nucleares que pertenecen al mismo par guanina-citosina con la inclusión de solvente por un lado y con el apilamiento en presencia de solvente por otro. Se emplearon los modelos PCM y de solvente explícito. El procedimiento de agregado de pares por encima y por debajo del par testigo fue diferente al empleado en el capítulo 4. Nuevamente, los núcleos evaluados en vacío no exhiben cambios apreciables en sus acoplamientos al aumentar el número de pares de bases apiladas. Frente al solvente implícito, sólo $J(N_1-C_2)$ experimenta incrementos de valor en todos los sistemas (alrededor de +4 %). Si bien los cambios son poco significativos, se puede percibir una tendencia hacia la disminución del valor de los acoplamientos en función del aumento de pares de bases.

La inclusión del solvente explícito afecta los acoplamientos en el par testigo para todos los sistemas al compararlos con el vacío. Se encuentran diferencias que superan el -7 %, como ocurre con $J(H_1-N_3)$ y $J(C_2-N_2)$ para los sistemas 2-3 y 2-3-4. Para 1-2-3, $J(H_1-N_3)$ alcanza un -5 %, mientras que $J(C_2-N_2)$ varía un -8 %. En 1-2-3-4-5 (CGCGA) $J(H_1-N_3)$ varía un +25 % (casi 1 Hz de diferencia) y $J(N_1-C_2)$ supera el +39 % (4.85 Hz de diferencia). El análisis del apilamiento de bases revela que la presencia del solvente potencia su efecto sobre los acoplamientos. De la comparación de los acoplamientos para el par 2 aislado con respecto a los acoplamientos cuando el sistema está compuesto por cinco pares de bases, surgen porcentajes de cambio que alcanzan el +30 % para $J(H_1-N_3)$ (1.13 Hz de diferencia), +39 % para $J(N_1-C_2)$ (4.78 Hz de diferencia) y +5 % para $J(C_2-N_2)$. Sin embargo, al sumar un par más (par 6), el sistema 1-2-3-4-5-6 presenta valores que se asemejan a los del par 2 aislado.

Por primera vez se determinaron los acoplamientos indirectos entre núcleos que pertenecen a dos pares de bases que se encuentran bajo la influencia de una interacción de apilamiento π . Se comprobó que el efecto de esta interacción puede experimentar variaciones debidas a la adición de pares de bases nitrogenadas por encima y por debajo del par elegido como testigo en vacío, y en este sentido, los acoplamientos J demuestran ser sensibles a estas variaciones. Por su lado, la presencia del solvente explícito también produce cambios que se ven reflejados en los valores de acoplamiento-

to, no sólo para cada sistema en particular comparado con los valores en vacío, sino también durante el proceso de adición de pares de bases. De esta manera, el solvente también influye sobre el efecto de apilamiento.

A la luz de los resultados obtenidos a partir de esta serie de estudios, surgen cuestiones que requerirán un abordaje posterior. Entre ellos, será necesario buscar alternativas para el cálculo de acoplamientos indirectos entre núcleos que pertenecen a dos pares de bases apilados, sin la generación de inestabilidades que lleven a la obtención de resultados anormales. Por otro lado, a fin de corroborar las tendencias encontradas al incluir el solvente de modo explícito, será preciso realizar estudios cambiando el o los pares empleados como testigos de las variaciones de los parámetros espectroscópicos evaluados, así como el número de pares que se adicionen por encima y debajo de ellos. Además, debido a que nuestros estudios sobre los efectos del solvente se realizaron únicamente para fragmentos con secuencias ricas en pares GC, el empleo de secuencias ricas en AT podría aportar información adicional complementaria.

Existen dos sistemas que resultan de particular interés y que serán objeto de investigaciones posteriores, puesto que involucran interacciones no covalentes como el efecto de apilamiento y bases de ácidos nucleicos. El primero de ellos tiene que ver con las regiones teloméricas con secuencias ricas en guanina, las cuales pueden ensamblarse en estructuras apiladas de cuatro guaninas (tétradas de guanina). Un papel biológico crucial de las tétradas radica en su actividad reguladora de las enzimas telomerasas. El segundo de ellos se relaciona con moléculas aromáticas policíclicas planares, las que tienen la habilidad de insertarse o intercalarse entre dos pares de bases consecutivos, los cuales tienen una actividad antitumoral. En ambos casos no está claro el tipo de interacciones que se establece, por lo que estudios basados en los cálculos teóricos de los parámetros espectroscópicos de la RMN podrían ayudar a dilucidar estas cuestiones.

Bibliografía

- [1] J. Černý y P. Hobza. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9:5291–5303, 2007.
- [2] J. Rezáč y P. Hobza. *Chem. A Eur. J.*, 13:2983–2989, 2007.
- [3] J. Šponer, J. E. Šponer, A. Mládek, P. Jurečka, P. Banáš y M. Otyepka. *Biopolym.*, 99:978–988, 2013.
- [4] L. Guillaumes, S. Simon y C. Fonseca Guerra. *ChemistryOpen*, 4:318–327, 2015.
- [5] J. Poater, M. Swart, F. M. Bickelhaupt y C. Fonseca Guerra. *Org. Biomol. Chem.*, 12:4691–4700, 2014.
- [6] H. Szatyłowicz y N. Sadlej-Sosnowska. *J. Chem. Inf. Model.*, 50(12):2151–2161, 2010.
- [7] J. Černý, M. Kabelác y P. Hobza. *J. Am. Chem. Soc.*, 130:16055–16059, 2008.
- [8] C. Fonseca Guerra, F. M. Bickelhaupt, J. G. Snijders y E. J. Baerends. *Chem. Eur. J.*, 5:3581–3594, 1999.
- [9] F. Kilchherr, C. Wachauf, B. Pelz, M. Rief, M. Zacharias y H. Dietz. *Science*, 353:aaf5508, 2016.
- [10] J. Šponer, K. E. Riley y P. Hobza. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 10:2595–2610, 2008.
- [11] S. Grimme. *Angew. Chem. Internat. Edit.*, 47:3430–3434, 2008.

- [12] C. R. Martinez y B. L. Iverson. *Chem. Sci.*, 3:2191–2201, 2012.
- [13] J. Poater, M. Swart, C. Fonseca Guerra y F. M. Bickelhaupt. *Chem. Comm.*, 47:7326–7328, 2011.
- [14] M. Durec, F. Zaccaria, C. Fonseca Guerra y R. Marek. *Chem. Eur. J.*, 22:10912–10922, 2016.
- [15] Y. P. Yurenko, J. Novotny, M. P. Mitoraj, V. Sklenar, A. Michalak y R. Marek. *J. Chem. Theory Comput.*, 10:5353–5365, 2014.
- [16] W. Saenger, W. N. Hunter y O. Kennard. *Nature*, 324:385, 1986.
- [17] B. Jayaram y T. Jain. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 33:343–361, 2004.
- [18] P. L. Privalov, A. I. Dragan, C. Crane-Robinson, K. J. Breslauer, D. P. Remeta y C. A. Minetti. *J. Mol. Biol.*, 365:1–9, 2007.
- [19] G. M. Spitzer, J. E. Fuchs, P. Markt, J. Kirchmair, B. Wellenzohn, T. Langer y K. R. Liedl. *Chem. Phys. Chem.*, 9:2766–2771, 2008.
- [20] P. Ball. *Chem. Rev.*, 108:74–108, 2008.
- [21] E. Duboue-Dijon, A. C. Fogarty, J. T. Hynes y D. Laage. *J. Am. Chem. Soc.*, 138:7610–7620, 2016.
- [22] J. Poater, M. Swart, C. Fonseca Guerra y F. M. Bickelhaupt. *Chem. Comm.*, 47:7326–7328, 2011.
- [23] J. Poater, M. Swart, C. Fonseca Guerra y F. M. Bickelhaupt. *Comput. Theor. Chem.*, 998:57–63, 2012.
- [24] J. Poater, M. Swart, F. M. Bickelhaupt y C. Fonseca Guerra. *Org. Biomol. Chem.*, 12:4691–4700, 2014.
- [25] T. A. Hamlin, J. Poater, C. Fonseca Guerra y F. M. Bickelhaupt. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 19:16969–16978, 2017.

- [26] D. J. Gibson y T. van Mourik. *Chem. Phys. Lett.*, 668:7–13, 2017.
- [27] P. Sharma, L. A. Lait y S. D. Wetmore. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 15:2435–2448, 2013.
- [28] P. Sharma, L. A. Lait y S. D. Wetmore. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 15:15538–15549, 2013.
- [29] B. Fürtig, C. Richter, J. Wöhnert y H. Schwalbe. *Chembiochem*, 4:936–962, 2003.
- [30] A. T. Frank, S. Horowitz, I. Andricioaei y H. M. Al-Hashimi. *J. Phys. Chem. B*, 117:2045–2052, 2013.
- [31] N. Juranic, P. K. Ilich y S. Macura. *J. Am. Chem. Soc.*, 117:405–410, 1995.
- [32] N. Juranic, V. A. Likic, F. G. Prendergast y S. Macura. *J. Am. Chem. Soc.*, 118:7859–7860, 1996.
- [33] R. Marek, A. Křístková, K. Maliňáková, J. Toušek, J. Marek, M. Hocek, O. L. Malkina y V. G. Malkin. *J. Phys. Chem. A*, 114:6689–6700, 2010.
- [34] R. Fiala, M. L. Munzarová y V. Sklenář. *J. Biomolec. NMR*, 29:477–490, 2004.
- [35] A. J. Dingley, J. E. Masse, R. D. Peterson, M. Barfield, J. Feigon y S. Grzesiek. *J. Am. Chem. Soc.*, 121:6019–6027, 1999.
- [36] M. Barfield, A. J. Dingley, J. Feigon y S. Grzesiek. *J. Am. Chem. Soc.*, 123:4014–4022, 2001.
- [37] J. M. Fonville, M. Swart, Z. Vokáčová, V. Sychrovská, J. E. Šponer, J. Šponer y S. S. Wijmenga. *Chem. A Eur. J.*, 18:12372–12387, 2012.
- [38] M. Dračinský y R. Pohl: *Ann. Rep. NMR Spec.* Volumen 82, páginas 59–113. Elsevier, 2014.

- [39] J. Z. Hu, J. C. Facelli, D. W. Alderman, R. J. Pugmire y D. M. Grant. *J. Am. Chem. Soc.*, 120:9863–9869, 1998.
- [40] R. Marek, A. Lycka, E. Kolehmainen, E. Sievanen y J. Tousek. *Curr. Org. Chem.*, 11:1154–1205, 2007.
- [41] J. Czernek, R. Fiala y V. Sklenář. *J. Magn. Reson.*, 145:142–146, 2000.
- [42] A. C. Castro, M. Swart y C. Fonseca Guerra. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 19:13496–13502, 2017.
- [43] A. Asensio, N. Kobko y J. J. Dannenberg. *J. Phys. Chem. A*, 107:6441–6443, 2003.
- [44] T. van Mourik y A. J. Dingley. *J. Phys. Chem. A*, 111:11350–11358, 2007.
- [45] K. Sutter, G. A. Aucar y J. Autschbach. *Chem. A Eur. J.*, 21:18138–18155, 2015.
- [46] N. Zarycz, G. A. Aucar y C. O. D. Védova. *J. Phys. Chem. A*, 114:7162–7172, 2010.
- [47] P. F. Provasi, G. A. Aucar, M. Sanchez, I. Alkorta, J. Elguero y S. P. Sauer. *J. Phys. Chem. A*, 109:6555–6564, 2005.
- [48] P. F. Provasi, G. A. Aucar y S. P. A. Sauer. *J. Phys. Chem. A*, 108:5393–5398, 2004.
- [49] A. D. Becke. *J. Chem. Phys.*, 98:5648–5652, 1993.
- [50] C. Lee, W. Yang y R. G. Parr. *Phys. Rev. B*, 37:785–789, 1988.
- [51] A. D. Becke. *J. Chem. Phys.*, 98:1372–1377, 1993.
- [52] T. W. Keal y D. J. Tozer. *J. Chem. Phys.*, 119:3015–3024, 2003.
- [53] T. W. Keal y D. J. Tozer. *J. Chem. Phys.*, 121:5654–5660, 2004.

- [54] E. S. Nielsen, P. Jørgensen y J. Oddershede. *J. Chem. Phys.*, 73:6238–6246, 1980.
- [55] M. J. Packer, E. K. Dalskov, T. Enevoldsen, H. J. R. A. Jensen y J. Oddershede. *J. Chem. Phys.*, 105:5886–5900, 1996.
- [56] K. L. Bak, H. Koch, J. Oddershede, O. Christiansen y S. P. Sauer. *J. Chem. Phys.*, 112:4173–4185, 2000.
- [57] S. Grimme. *J. Comput. Chem.*, 27:1787–1799, 2006.
- [58] T. Helgaker, P. Jørgensen y J. Olsen: *Molecular electronic-structure theory*. John Wiley & Sons, 2014.
- [59] A. Szabo y N. S. Ostlund: *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*. Courier Corporation, 2012.
- [60] M. A Buijse y E. J. Baerends: *Density Functional Theory of Molecules, Clusters, and Solids*. páginas 1–46. Springer, 1996.
- [61] F. Jensen: *Introduction to Computational Chemistry*. John Wiley & Sons, 2007.
- [62] W. J. Hehre, R. F. Stewart y J. A. Pople. *J. Chem. Phys.*, 51:2657–2664, 1969.
- [63] J. B. Collins, P. von R. Schleyer, J. S. Binkley y J. A. Pople. *J. Chem. Phys.*, 64:5142–5151, 1976.
- [64] R. H. W. J. Ditchfield, W. J. Hehre y J. A. Pople. *J. Chem. Phys.*, 54:724–728, 1971.
- [65] R. Krishnan, M. J. Frisch y J. A. Pople. *J. Chem. Phys.*, 72:4244–4245, 1980.
- [66] T. H. Dunning Jr. *J. Chem. Phys.*, 90:1007–1023, 1989.
- [67] D. B. Chesnut y K. D. Moore. *J. Comput. Chem.*, 10:648–659, 1989.

- [68] D. B. Chesnut, B. E. Rusilosky, K. D. Moore y D. A. Egolf. *J. Comput. Chem.*, 14:1364–1375, 1993.
- [69] G. A. DiLabio. *J. Phys. Chem. A*, 103:11414–11424, 1999.
- [70] P. F. Provasi, G. A. Aucar y S. P. A. Sauer. *J. Chem. Phys.*, 112:6201–6208, 2000.
- [71] M. Sanchez, P. F. Provasi, G. A. Aucar y S. P. A. Sauer: *Advances in Quantum Chemistry*. Volumen 48, páginas 161–183. Elsevier, 2005.
- [72] D. M. Reid, R. Kobayashi y M. A. Collins. *J. Chem. Theory Comput.*, 10:146–152, 2013.
- [73] P. Hohenberg y W. Kohn. *Phys. Rev. B*, 136:76, 1964.
- [74] W. Kohn y L. J. Sham. *Phys. Rev.*, 140:A1133, 1965.
- [75] K. Wolfram y M. C. Holthausen. *Wiley-VCH Verlag, GmbH*, páginas 212–215, 2001.
- [76] J. C. Slater y J. C. Phillips. *Phys. Today*, 27:49, 1974.
- [77] S. H. Vosko, L. Wilk y M. Nusair. *Canad. J. Phys.*, 58:1200–1211, 1980.
- [78] C. Lee, W. Yang y R. G. Parr. *Phys. Rev. B*, 37:785, 1988.
- [79] A. D. Becke. *Phys. Rev. A*, 38:3098, 1988.
- [80] T. W. Keal y D. J. Tozer. *J. Chem. Phys.*, 119:3015–3024, 2003.
- [81] K. Müller-Dethlefs y P. Hobza. *Chem. Rev.*, 100:143–168, 2000.
- [82] M. Taddei, F. Costantino, R. Vivani, C. Sangregorio, L. Sorace y L. Castelli. *Cryst. Growth Design*, 12:2327–2335, 2012.
- [83] M. Dračinský y O. Castaño. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 6:1799–1805, 2004.

- [84] S. Grimme. *J. Comput. Chem.*, 25:1463–1473, 2004.
- [85] A. D. Becke. *J. Chem. Phys.*, 107:8554–8560, 1997.
- [86] P. Jørgensen y J. Oddershede. *J. Chem. Phys.*, 57:277–285, 1972.
- [87] J. Linderberg, P. Jørgensen, J. Oddershede y M. Ratner. *J. Chem. Phys.*, 56:6213–6219, 1972.
- [88] J. Oddershede: *Advances in Quantum Chemistry*. Volumen 11, páginas 275–352. Elsevier, 1978.
- [89] G. A. Aucar. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 16:4420–4438, 2014.
- [90] G. A. Aucar, R. H. Romero y A. F. Maldonado. *Int. Rev. Phys. Chem.*, 29(1):1–64, 2010.
- [91] J. Oddershede: *Methods in Computational Molecular Physics*. páginas 249–270. Springer, 1983.
- [92] G. A. Aucar. *Concepts Magn. Reson. A*, 32A(2):88–116, 2008.
- [93] G. A. Aucar y R. H. Contreras. *J. Magnet. Res.*, 93:413–418, 1991.
- [94] G. A. Aucar, E. Botek, S. Go, E. Sproviero, R. H. Contreras y cols. *J. Organomet. Chem.*, 524:1–7, 1996.
- [95] J. Oddershede, P. Jørgensen y D. L. Yeager. *Comput. Phys. Rep.*, 2(2):33–92, 1984.
- [96] O. L. Malkina, D. R. Salahub y V. G. Malkin. *J. Chem. Phys.*, 105:8793–8800, 1996.
- [97] J. Geertsen, J. Oddershede y G. E. Scuseria. *J. Chem. Phys.*, 87:2138–2142, 1987.

- [98] L. B. Krivdin, S. P. A. Sauer, J. E. Peralta y R. H. Contreras. *Magn. Reson. Chem.*, 40:187–194, 2002.
- [99] J. Geertsen y J. Oddershede. *Chem. Phys.*, 90:301–311, 1984.
- [100] T. Enevoldsen, J. Oddershede y S. P. A. Sauer. *Theor. Chem. Acc.*, 100:275–284, 1998.
- [101] P. H. Hünenberger y W. F. van Gunsteren: *Computer Simulation of Biomolecular Systems*. páginas 3–82. Springer, 1997.
- [102] M. A. L. Eriksson, J. Pitera y P. A. Kollman. *J. Med. Chem.*, 42:868–881, 1999.
- [103] S. Hug: *Biomolecular Simulations*. páginas 127–152. Springer, 2013.
- [104] L. Monticelli y D. P. Tieleman: *Biomolecular simulations*. páginas 197–213. Springer, 2013.
- [105] W. Pauli. *Naturwissenschaften*, 12:74, 1924.
- [106] W. E. Lamb Jr. *Phys. Rev.*, 60:817, 1941.
- [107] N. F. Ramsey. *Phys. Rev.*, 78:699–703, 1950.
- [108] N. F. Ramsey y E. M. Purcell. *Phys. Rev.*, 85:143, 1952.
- [109] T. Helgaker, M. Jaszuński y M. Pecul. *Chem. Rev.*, 99:293–352, 1999.
- [110] N. F. Ramsey. *Phys. Rev.*, 91:303, 1953.
- [111] J. W. Larson y T. B. McMahon. *Inorg. Chem.*, 23:2029–2033, 1984.
- [112] C. M. Widdifield, G. Cavallo, G. A. Facey, T. Pilati, J. Lin, P. Metrangolo, G. Resnati y D. L. Bryce. *Chem. Eur. J.*, 19:11949–11962, 2013.
- [113] G. Gilli y P. Gilli: *The nature of the hydrogen bond: outline of a comprehensive hydrogen bond theory*, volumen 23. Oxford University Press, 2009.

- [114] G. R. Desiraju y T. Steiner: *The weak hydrogen bond: in structural chemistry and biology*, volumen 9. International Union of Crystal, 2001.
- [115] G. A. Jeffrey y W. Saenger: *Hydrogen bonding in biological structures*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [116] P. Hobza y Z. Havlas. *Chem. Rev.*, 100:4253–4264, 2000.
- [117] S. J. Grabowski. *Chem. Rev.*, 111:2597–2625, 2011.
- [118] G. R. Desiraju y G. W. Parshall. *Mater. Sci. Monogr.*, 54, 1989.
- [119] C. Bilton, F. H. Allen, G. P. Shields y J. A. K. Howard. *Acta Cryst. B*, 56:849–856, 2000.
- [120] T. Steiner. *Angew. Chem. internat. Edit.*, 41:48–76, 2002.
- [121] G. R. Desiraju. *Angew. Chem. internat. Edit.*, 50:52–59, 2011.
- [122] L. Sobczyk, S. J. Grabowski y T. M. Krygowski. *Chem. Rev.*, 105:3513–3560, 2005.
- [123] D. Rusinska-Roszak y G. Sowinski. *J. Chem. Inf. Model.*, 54:1963–1977, 2014.
- [124] S. Grzesiek, F. Cordier, V. Jaravine y M. Barfield. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spec.*, 3:275–300, 2004.
- [125] E. F. Garman. *Science*, 343:1102–1108, 2014.
- [126] P. M. B. Piccoli, T. F. Koetzle y A. J. Schultz. *Comm. Inorg. Chem.*, 28:3–38, 2007.
- [127] M. Dračinský: *Ann. Rep. NMR Spectrosc.* Volumen 90, páginas 1–40. Elsevier, 2017.
- [128] E. Brunner y U. Sternberg. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spec.*, 32:21–57, 1998.

- [129] A. E. Aliev y K. D. M. Harris: *Supramolecular Assembly via Hydrogen Bonds I*. páginas 1–53. Springer, 2004.
- [130] G. A. Jeffrey y Y. Yeon. *Acta Crystallogr. B*, 42:410–413, 1986.
- [131] U. Sternberg y E. Brunner. *J. Magn. Reson. A*, 108:142–150, 1994.
- [132] T. K. Harris y A. S. Mildvan. *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.*, 35:275–282, 1999.
- [133] P. A. Sigala, A. T. Fafarman, J. P. Schwans, S. D. Fried, T. D. Fenn, J. M. M. Caaveiro, B. Pybus, D. Ringe, G. A. Petsko, S. G. Boxer y cols. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 110:E2552–E2561, 2013.
- [134] N. J. Baxter y M. P. Williamson. *J. Biomol. NMR*, 9:359–369, 1997.
- [135] S. W. Englander y N. R. Kallenbach. *Quart. Rev. Biophys.*, 16:521–655, 1983.
- [136] M. Williamson y D. Neuhaus: *The nuclear Overhauser effect in structural and conformational analysis*. Vch Publishers, Incorporated, 1989.
- [137] B. Vögeli. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spec.*, 78:1–46, 2014.
- [138] S. Grzesiek, F. Cordier y A. J. Dingley. *Meth. Enzymol.*, 338:111, 2001.
- [139] S. Bolvig y P. E. Hansen. *Curr. Org. Chem.*, 4:19–54, 2000.
- [140] I. Schnell y K. Saalwächter. *J. Am. Chem. Soc.*, 124:10938–10939, 2002.
- [141] M. Barfield, A. J. Dingley, J. Feigon y S. Grzesiek. *J. Am. Chem. Soc.*, 123:4014–4022, 2001.
- [142] E. Pauwels, D. Claeys, J. C. Martins, M. Waroquier, G. Bifulco, V. Van Speybroeck y A. Madder. *RSC Advances*, 3:3925–3938, 2013.
- [143] V. Barone, R. Improta y N. Rega. *Acc. Chem. Res.*, 41:605–616, 2008.
- [144] F. A. A. Mulder y M. Filatov. *Chem. Soc. Rev.*, 39:578–590, 2010.

- [145] M. W. Lodewyk, M. R. Siebert y D. J. Tantillo. *Chem. Rev.*, 112:1839–1862, 2011.
- [146] M. G. Siskos, V. G. Kontogianni, C. G. Tsiafoulis, A. G. Tzakos y I. P. Gerotheranassis. *Org. Biomol. Chem.*, 11:7400–7411, 2013.
- [147] M. G. Siskos, A. G. Tzakos y I. P. Gerotheranassis. *Org. Biomol. Chem.*, 13:8852–8868, 2015.
- [148] R. K. Harris, P. Y. Ghi, R. B. Hammond, C. Ma y K. J. Roberts. *Chem. Comm.*, páginas 2834–2835, 2003.
- [149] M. G. Siskos, M. I. Choudhary, A. G. Tzakos y I. P. Gerotheranassis. *Tetrahedron*, 72:8287–8293, 2016.
- [150] S. E. Ashbrook y D. McKay. *Chem. Comm.*, 52:7186–7204, 2016.
- [151] A. V. Afonin, I. A. Ushakov, A. V. Vashchenko, E. V. Kondrashov y A. Y. Rulev. *Magn. Res. Chem.*, 48:661–670, 2010.
- [152] A. S. Mildvan, T. K. Harris y C. Abeygunawardana: *Methods in enzymology*. Volumen 308, páginas 219–245. Elsevier, 1999.
- [153] J. R. Yates, T. N. Pham, C. J. Pickard, F. Mauri, A. M. Amado, A. M. Gil y S. P. Brown. *J. Am. Chem. Soc.*, 127:10216–10220, 2005.
- [154] S. P. Brown: *Hydrogen bonding in crystalline organic solids*. eMagRes, 2007.
- [155] D. W. Boykin: *^{17}O NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*. CRC press, 1990.
- [156] A. C. De Dios, J. G. Pearson y E. Oldfield. *Science*, 260:1491–1496, 1993.
- [157] A. J. Dingley, J. E. Masse, R. D. Peterson, M. Barfield, J. Feigon y S. Grzesiek. *J. Am. Chem. Soc.*, 121:6019–6027, 1999.
- [158] F. Löhr, S. G. Mayhew y H. Rüterjans. *J. Am. Chem. Soc.*, 122:9289–9295, 2000.

- [159] A. J. Dingley y S. Grzesiek. *J. Am. Chem. Soc.*, 120:8293–8297, 1998.
- [160] K. Pervushin, A. Ono, C. Fernández, T. Szyperski, M. Kainosho y K. Wüthrich. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 95:14147–14151, 1998.
- [161] J. Czernek y R. Brüschweiler. *J. Am. Chem. Soc.*, 123:11079–11080, 2001.
- [162] E. A. Meyer, R. K. Castellano y F. Diederich. *Angew. Chem. Internat. Edit.*, 42:1210–1250, 2003.
- [163] Marcey L Waters. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 6:736–741, 2002.
- [164] C. A. Hunter y J. K. M. Sanders. *J. Am. Chem. Soc.*, 112:5525–5534, 1990.
- [165] C. A. Hunter, K. R. Lawson, J. Perkins y C. J. Urch. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, páginas 651–669, 2001.
- [166] A. P. West Jr, S. Mecozzi y D. A. Dougherty. *J. Phys. Org. Chem.*, 10:347–350, 1997.
- [167] S. Tsuzuki: *Intermolecular Forces and Clusters I*. páginas 149–193. Springer, 2005.
- [168] S. Tsuzuki, K. Honda, T. Uchimaru, M. Mikami y K. Tanabe. *J. Am. Chem. Soc.*, 124:104–112, 2002.
- [169] S. Grimme, J. Antony, T. Schwabe y C. Mück-Lichtenfeld. *Org. Biomol. Chem.*, 5:741–758, 2007.
- [170] R. Fasan, R. L. A. Dias, K. Moehle, O. Zerbe, D. Obrecht, P. R. E. Mittl, M. G. Grütter y J. A. Robinson. *ChemBioChem*, 7:515–526, 2006.
- [171] V. L. Malinovskii, F. Samain y R. Häner. *Angew. Chem.*, 119:4548–4551, 2007.
- [172] S. Yanagisawa, P. B. Crowley, S. J. Firbank, A. T. Lawler, D. M. Hunter, W. McFarlane, C. Li, T. Kohzuma, M. J. Banfield y C. Dennison. *J. Am. Chem. Soc.*, 130:15420–15428, 2008.

- [173] M. Dračinský y P. Bour. *J. Chem. Theory Comput.*, 6:288–299, 2009.
- [174] M. Dračinský, J. Kaminský y P. Bour. *J. Phys. Chem. B*, 113:14698–14707, 2009.
- [175] S. Miertus y J. Tomasi. *Chem. Phys.*, 65:239–245, 1982.
- [176] R. Cammi y J. Tomasi. *J. Comp. Chem.*, 16:1449–1458, 1995.
- [177] B. Mennucci, E. Cancès y J. Tomasi. *J. Phys. Chem. B*, 101:10506–10517, 1997.
- [178] M. Pecul y J. Sadlej. *Chem. Phys. Lett.*, 308(5-6):486–494, 1999.
- [179] V. Sychrovský, B. Schneider, P. Hobza, L. Žídek y V. Sklenář. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 5:734–739, 2003.
- [180] P. Bouř, M. Buděšínský, V. Špirko, J. Kapitán, J. Šebestík y V. Sychrovský. *J. Am. Chem. Soc.*, 127:17079–17089, 2005.
- [181] H. Kjaer, S. P. Sauer y J. Kongsted. *J. Chem. Phys.*, 133:144106–144119, 2010.
- [182] J. Gauss. *J. Chem. Phys.*, 99:3629–3643, 1993.
- [183] A. A. Auer, J. Gauss y J. F. Stanton. *J. Chem. Phys.*, 118:10407–10417, 2003.
- [184] J. Vaara. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9:5399–5418, 2007.
- [185] T. Helgaker, M. Jaszuński y K. Ruud. *Prog. NMR Spectrosc.*, 53:249–268, 2008.
- [186] A. Perera. *Molec. Phys.*, 108:3017–3025, 2010.
- [187] J. Kongsted, K. Aidas, K. V. Mikkelsen y S. P. Sauer. *J. Chem. Theor. Comput.*, 4:267–277, 2008.
- [188] W. J. Hehre, R. Ditchfield y J. A. Pople. *J. Chem. Phys.*, 56:2257–2261, 1972.
- [189] M. J. Frisch, J. A. Pople y J. S. Binkley. *J. Chem. Phys.*, 80:3265–3269, 1984.
- [190] T. H. Dunning Jr. *J. Chem. Phys.*, 90:1007–1023, 1989.

- [191] D. E. Woon y T. H. Dunning Jr. *J. Chem. Phys.*, 98:1358–1371, 1993.
- [192] R. A. Kendall, T. H. Dunning Jr y R. J. Harrison. *J. Chem. Phys.*, 96:6796–6806, 1992.
- [193] D. E. Woon y T. H. Dunning Jr. *J. Chem. Phys.*, 103:4572–4585, 1995.
- [194] R. Ditchfield. *J. Chem. Phys.*, 56:5688–5691, 1972.
- [195] K. Wolinski, J. F. Hinton y P. Pulay. *J. Am. Chem. Soc.*, 112:8251–8260, 1990.
- [196] T. Helgaker, P. J. Wilson, R. D. Amos y N. C. Handy. *J. Chem. Phys.*, 113:2983–2989, 2000.
- [197] Aidas, K.; Angeli, C.; Bak, K. L.; Bakken, V.; Bast, R.; Boman, L.; Christiansen, O.; Cimiraglia, R.; Coriani, S.; Dahle, P.; Dalskov, E. K.; Ekström, U.; Enevoldsen, T.; Eriksen, J. J.; Ettenhuber, P.; Fernández, B.; Ferrighi, L.; Fliegl, H.; Frediani, L.; Hald, K.; Halkier, A.; Hättig, C.; Heiberg, H.; Helgaker, T.; Hennum, A. C.; Hettema, H.; Hjertenæs, E.; Høst, S.; Høyvik, I.-M.; Iozzi, M. F.; Jansik, B.; Jensen, H. J. Aa.; Jonsson, D.; Jørgensen, P.; Kauczor, J.; Kirpekar, S.; Kjærgaard, T.; Klopper, W.; Knecht, S.; Kobayashi, R.; Koch, H.; Kongsted, J.; Krapp, A.; Kristensen, K.; Ligabue, A.; Lutnæs, O. B.; Melo, J. I.; Mikkelsen, K. V.; Myhre, R. H.; Neiss, C.; , Nielsen, C. B.; Norman, P.; Olsen, J.; Olsen, J. M. H.; Osted, A.; Packer, M. J.; Pawłowski, F.; Pedersen, T. B.; Provasi, P. F.; Reine, S.; Rinkevicius, Z.; Ruden, T. A.; Ruud, K.; Rybkin, V.; Salek, P.; Samson, C. C. M.; Sánchez de Merás, A.; Saue, T.; Sauer, S. P. A.; Schimmelpfennig, B.; Sneskov, K.; Steinda, A. H.; Sylvester-Hvid, K. O.; Taylor, P. R.; Teale, A. M.; Tellgren, E. I.; Tew, D. P.; Thorvaldsen, A. J.; Thøgersen, L.; Vahtras, O.; Watson, M. A.; Wilson, D. J. D.; Ziolkowski, M.; Ågren, H. , The Dalton quantum chemistry program system, *WIREs Comput. Mol. Sci.* 2014, 4:269–284 (doi: 10.1002/wcms.1172).
- [198] Y. Y. Rusakov y L. B. Krivdin. *Russ. Chem. Rev.*, 82:99–130, 2013.

- [199] S. S. Wijmenga y B. N. M. van Buuren. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 32:287–387, 1998.
- [200] M. Dračinský, P. Jansa y P. Bouř. *Chemistry—A European Journal*, 18:981–986, 2012.
- [201] K. Ruud, P. Åstrand y P. R. Taylor. *J. Am. Chem. Soc.*, 123:4826–4833, 2001.
- [202] L. J. Rothschild y R. L. Mancinelli. *Nature*, 409:1092, 2001.
- [203] Y. Levy y J. N. Onuchic. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 35:389–415, 2006.
- [204] E. Arunan, G. R. Desiraju, R. A. Klein, J. Sadlej, S. Scheiner, I. Alkorta, D. C. Clary, R. H. Crabtree, J. J. Dannenberg, P. Hobza y cols. *Pure and Applied Chemistry*, 83:1619–1636, 2011.
- [205] H. J. Bakker y J. L. Skinner. *Chem. Rev.*, 110:1498–1517, 2009.
- [206] C. T. Middleton, K. de La Harpe, C. Su, Y. K. Law, C. E. Crespo-Hernández y B. Kohler. *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 60:217–239, 2009.
- [207] S. K. Pal y A. H. Zewail. *Chem. Rev.*, 104:2099–2124, 2004.
- [208] T. Clark, J. Chandrasekhar, G. W. Spitznagel y P. R. J. Schleyer. *Comp. Chem.*, 4:294, 1983.
- [209] M. Dračinský, M. Buchta, M. Buděšínský, J. Vacek-Chocholoušová, I. G. Stará, I. Starý y O. L. Malkina. *Chem. Sci.*, 9:7437–7446, 2018.

Publicaciones

F. A. Martínez y G. A. Aucar. *Intermolecular magnetic interactions in stacked DNA base pairs*. Phys. Chem. Chem. Phys., 19:27817-27827, 2017.